

**Laajakirjoisia beetalaktamaaseja tuottavat bakteerit
koirien seulontanäytteissä 2012-2017**

Tiina Anttila

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma
Eläinlääketieteellinen kliininen diagnostiikka
Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto
Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Helsingin yliopisto
2019



Tiedekunta - Fakultet – Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekunta		Osasto - Avdelning – Department Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto
Tekijä - Författare – Author Tiina Anttila		
Työn nimi - Arbetets titel – Title Laajakirjoisia beetalaktamaaseja tuottavat bakteerit koirien seulontanäytteissä 2012–2017		
Oppiaine - Läroämne - Subject Eläinlääketieteellinen mikrobiologia		
Työn laji - Arbetets art – Level Lisensiaatin tutkielma	Aika - Datum - Month and year 2/2019	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 41
Tiivistelmä - Referat – Abstract <p>ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase) eli laajakirjoiset beetalaktamaasit ovat pääasiassa <i>Enterobacteriaceae</i> -heimon bakteerien, kuten <i>Escherichia coli</i> ja <i>Klebsiella pneumoniae</i>-bakteereiden tuottamia entsyymejä, joilla ne muuttuvat vastustuskykyiseksi tiettyjä beetalaktaamiryhmän mikrobilääkkeitä vastaan. Beetalaktaamit, kuten penisilliinit ja kefalosporiinit, ovat yleisesti käytössä olevia mikrobilääkkeitä sekä lääketieteessä että eläinlääketieteessä. ESBL-bakteerit ovat yleistymässä eläimillä aiheuttaen ongelmia eläinlääkinnälle, sillä moniresistenttien bakteerien aiheuttamia infektioita on vaikea hoitaa. ESBL-bakteerit ovat myös zoonoottisia, eli ne voivat tarttua eläimestä ihmiseen ja toisin päin, aiheuttaen ongelmia myös kansanterveydelle. Tämä lisensiaatintutkielma on kaksiosainen: kirjallisuuskatsauksessa käsitellään ESBL:ää, riskitekijöitä ESBL-kantajuudelle sekä ESBL-bakteerien vastustamista ja ESBL-bakteerien aiheuttamien infektioiden hoitoa eläimillä aiempaan tutkimustietoon perustuen. Tutkimusosiossa tavoitteena oli selvittää Eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen mikrobiologian laboratorion seulontanäytteistä vuosilta 2012-2017 ESBL:n ja AmpC:n yleisyyttä koirilla, ESBL/AmpC-bakteerien mikrobilääkeherkkyyksiä sekä mahdollisia riskitekijöitä ESBL/AmpC-kantajuudelle. Aikaisempien tutkimustulosten perusteella hypoteesina oli, että etenkin mikrobilääkehoito sekä koiran alkuperämaa (tuontikoirat) lisäävät riskiä ESBL/AmpC:n kantajuudelle.</p> <p>Seulontanäytteitä oli yhteensä 523:sta koirasta. Potilaiden esitiedot ja seulontanäytteiden kiekkoherkkyyismääritysten tulokset oli koottu taulukkolaskentaohjelmaan. Riskitekijöitä (mikrobilääkitys- ja tuontitasta, ikä, sukupuoli) analysoitiin SPSS-ohjelmalla ja mikrobilääkeherkkyydet määritettiin WHONET-ohjelmalla CLSI:n asettamien herkkyysrajojen perusteella. Tilastollisen merkitsevyyden raja-arvo oli $p < 0,05$. Seulontanäytteistä ESBL-negatiivisia koiria oli 430 (82,2%) ja ESBL/AmpC-positiivisia koiria oli 93 (17,8%). ESBL-positiivisista 88:lla lajina oli <i>E. coli</i> ja kolmella <i>K. pneumoniae</i>, sekä kahdella <i>Proteus mirabilis</i>. <i>E. coli</i>-kannoista 50 % ($n=44$) oli moniresistenttejä ollen vastustuskykyisiä mikrobilääkkeille vähintään kolmessa eri mikrobilääkekategoriassa (yleisimmin beetalaktaamit, fluorokinolonit, trimetopriimi-sulfonamit ja tetrasykliinit). Osa kannoista ($n=5$) oli edellisten lisäksi vastustuskykyisiä myös gentamisiiniä (aminoglykosidi) ja kloramfenikolia vastaan. Tutkimustulosten valossa todennäköisemmin sopivia mikrobilääkkeitä ESBL-bakteerien aiheuttamien infektioiden hoitoon koirilla olisivat aminoglykosidit, kloramfenikoli ja tetrasykliini. Tulokset ovat kuitenkin vain suuntaa antavia, sillä mikrobilääkkeiden käytön tulisi aina perustua herkkyysmäärittäykseen. Se, että potilas oli mikrobilääkehoidolla näytteenoton aikana, osoittautui suojelevaksi tekijäksi ESBL/AmpC-kantajuudelle (OR 0,416, $p=0,014$). Tuontitaston osalta ristitulosuhteeksi saatiin OR=1,608, mutta tulos ei ole tilastollisesti merkittävä, vaikkakin lähellä sitä ($p=0,073$). Ikä ja sukupuoli eivät osoittautuneet tilastollisesti merkitseviksi riskitekijöiksi ESBL/AmpC-kantajuudelle. Tulosten mahdollinen virhelähde on puutteelliset esitiedot etenkin mikrobilääkityksen ja tuontitaston osalta.</p> <p>Kaikkien tulee kantaa vastuu taistelussa moniresistenttejä bakteereja vastaan. Tärkeimpiä huomioitavia asioita ovat harkittu ja perusteltu mikrobilääkkeiden käyttö herkkyysmäärittäisiin perustuen sekä hygieeniset toimintatavat potilaita hoidettaessa.</p>		
Avainsanat - Nyckelord – Keywords ESBL, laajakirjoinen beetalaktamaasi, <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , seulontanäyte, riskitekijä		
Säilytyspaikka - Förvaringställe - Where deposited HELDA – Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto		
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Johtaja: Merja Rantala, dosentti, tarttuvien eläintautien erikoiseläinlääkäri Ohjaaja: Thomas Grönthal, kliininen opettaja, ELT, tarttuvien eläintautien erikoiseläinlääkäri		

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	1
2 KIRJALLISUUSKATSAUS	2
2.1 Yleistä ESBL:stä	2
2.2 Taudinaiheutus ja patogeneesi.....	2
2.2.1 <i>Escherichia coli</i>	3
2.2.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
2.3 Beetalaktaamit	5
2.3.1 Bentsyylipenisilliinit	7
2.3.2 Aminopenisilliinit	7
2.3.3 Beetalaktamaasien estäjät	7
2.3.4 Kefeemit	8
2.3.5 Monobaktaamit ja karbapeneemit	8
2.4 Beetalaktamaasien aiheuttaman resistenssin taustaa	9
2.5 ESBL-tuoton tutkiminen	10
2.5.1 Kiekkoherkkyysh menetelmä	10
2.5.2 E-testi	11
2.5.3 Liemilaimennos	12
2.5.4 ESBL- ja AmpC -fenotyypin testaamiseen käytettävät kiekot.....	12
2.6 ESBL:n epidemiologiaa	13
2.7 Riskitekijät ESBL:lle	14
2.7.1 Mikrobilääkkeiden käyttö	15
2.7.2 Ulkomaanmatkailu	15
2.7.3 Eläinlääkärikäynnit ja sairaalaympäristö	17
2.7.4 Raakaruoka	18
2.7.5 Muut riskitekijät.....	19
2.8 Zoonoottisuus	20
2.9 ESBL:n vastustaminen eläinklinikoilla	20
2.10 ESBL-tartuntojen hoito	22
3 TUTKIMUSOSIO	23
3.1 Aineisto ja menetelmät	24
3.1.1 Tutkimuspopulaatio	24

3.1.2 Tutkittavat mikrobilääkkeet	24
3.1.3 Tilastolliset menetelmät	24
3.2 Tulokset	25
3.2.1 Aineiston kuvailu	25
3.2.2 ESBL:n esiintyminen seulontanäytteissä	26
3.2.3 Mikrobilääkeherkkyydet	27
3.2.4 Riskitekijät	28
4 POHDINTA	29
5 KIRJALLISUUSLUETTELO	34

1 JOHDANTO

ESBL (Extended-spectrum beta-lactamase) eli laajakirjoiset beetalaktamaasit ovat pääasiassa *Enterobacteriaceae* -heimon bakteerien, kuten *Escherichia coli*:n ja *Klebsiella pneumoniae*:n ominaisuus, jolla ne muuttuvat vastustuskykyiseksi tiettyjä beetalaktaami-ryhmän mikrobilääkkeitä, pääasiassa penisilliinejä ja kefeemejä, vastaan (katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). Muita *Enterobacteriaceae*-heimon bakteerien tuottamia beetalaktamaaseja ovat muun muassa AmpC-tyypin beetalaktamaasit, jotka hydrolysoivat tehokkaammin kefalosporiineja kuin bentsyylipenisilliinejä ja säilyttävät vastustuskyvyn myös beetalaktamaasi-inhibiittoreita vastaan (katsauksessa Jacoby 2009, Rawat & Nair 2010). Beetalaktaamit ovat yleisesti käytössä olevia mikrobilääkkeitä sekä lääketieteessä että eläinlääketieteessä muun muassa niiden turvallisuuden takia (soveltuvat myös nuorille ja tiineille). Monien infektioiden (kuten virtsatieinfektiot ja puremahaavainfektiot) hoidossa ne ovat myös ensisijainen mikrobilääkevaihtoehto (Evira 2016b). Muiden moniresistenttien bakteerien lisäksi ESBL/AmpC-bakteerit ovat kuitenkin yleistyneet eläimillä aiheuttaen ongelmia eläinlääkinnälle, sillä moniresistenttien bakteerien aiheuttamia infektoita on vaikea hoitaa. ESBL/AmpC-entsyymejä tuottavat bakteerit ovat myös zoonoottisia, eli ne voivat tarttua eläinten ja ihmisten välillä aiheuttaen ongelmia myös kansanterveydelle (Ruokavirasto 2017d). Koska toimivia mikrobilääkkeitä tarvitaan myös tulevaisuudessa, tulee moniresistenttien bakteerien vastustuskeinoin, kuten mikrobilääkkeiden vastuulliseen käyttöön ja hyvään hygieniaan potilaita hoidettaessa kiinnittää aiempaa enemmän huomiota.

Suomalaisilla koirilla ESBL/AmpC-esiintyvyys on noin 5% (Vuorela ym. 2012). Tuontikoirilla moniresistenttien bakteerien uskotaan olevan vielä yleisempiä: jopa puolet Venäjältä tuoduista rescuekoirista ovat olleet ESBL-bakteerin kantajia (Helsingin yliopisto 2017).

Tämä liseniaatin tutkielma koostuu kahdesta osasta: kirjallisuuskatsauksesta ja tutkimusosiosta. Kirjallisuuskatsauksessa käsitellään ESBL:ää yleisesti eläimillä aiemman tutkimustiedon perusteella. Tutkimusosiossa tavoitteena oli selvittää Eläinlääketieteellisen tiedekunnan klinisen mikrobiologian laboratorion seulontanäytteistä vuosilta 2012-2017 ESBL ja AmpC:n yleisyyttä koirilla ja ESBL/AmpC-bakteerien mikrobilääkeherkkyyksiä. Tavoitteena oli myös selvittää mahdollisia riskitekijöitä ESBL/AmpC-kantajuudelle. Hypoteesina oli, että mikrobilääkehoito sekä koiran alkuperämaa (tuontikoirat) lisäävät riskiä ESBL/AmpC:n kantajuudelle.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 Yleistä ESBL:stä

ESBL (extended-spectrum beta-lactamase) eli laajakirjoiset beetalaktamaasit ovat entsyymiryhmä, jonka avulla eräät gramnegatiiviset *Enterobacteriaceae* -heimoon kuuluvat bakteerit voivat hankkia vastustuskyvyn tiettyjä beetalaktaami-mikrobilääkkeitä vastaan (katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). Tällaisia bakteereja ovat muun muassa suoliston ja limakalvojen normaalimikrobistoon kuuluvat *Escherichia coli* ja *Klebsiella pneumoniae* (Ruokavirasto 2018d), jotka aiheuttavat eläimillä yleisimmin virtsatie-, hengitystie-, iho-, ruoansulatuskanava- ja niveltulehduksia (katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). Tutkimuksissa ESBL:ää onkin eristetty muun muassa ulosteesta, virtsasta, iholta ja ihohaavoista (Zogg ym. 2018). Myös jotkut grampositiiviset bakteerit voivat hankkia resistenssin tuottamalla ESBL:ää, mutta tavallisimmin ESBL on gramnegatiivisten suolistobakteerien ominaisuus (Palzkill 2013). ESBL:llä saatetaan viitata suoraan kyseisiin bakteereihin (Ruokavirasto 2017d), vaikka kyseessä on vain bakteerien hankkima ominaisuus. Myös tässä tutkielmassa ESBL-termillä tarkoitetaan ESBL-ominaisuuden hankkinutta bakteeria.

ESBL:ää esiintyy sekä infektoituneiden että oireettomien kantajien limakalvoilla ja ulosteessa, joten se leviää tehokkaasti kosketustartuntana ja ulosteen välityksellä (Hawkey 2011). ESBL voi levitä myös saastuneen ruoan tai juoman välityksellä (Ruokavirasto 2017a), ja sitä on löydetty muun muassa broilerinlihasta (Päivärinta ym. 2016, Wedley ym. 2017) sekä raakaruoista (Nilsson ym. 2015, Baede ym. 2017).

2.2 Taudinaiheutus ja patogeneesi

Enterobacteriaceae -heimon bakteerit, kuten *Escherichia coli* ja *Klebsiella pneumoniae*, ovat gramnegatiivisia, suoria sauvabakteereja. Niillä on muiden gramnegatiivisten bakteerien tavoin ohut peptidoglykaanista koostuva soluseinä, jonka ulkopinnalla on endotoksiineina toimivia lipopolysakkarideja. Fakultatiivisesti anaerobeina ne pystyvät kasvamaan sekä hapellisessa että hapettomassa ympäristössä. Ne ovat lisäksi katalaasiposiitivisia ja oksidaasinegatiivisia (Moxley 2013a).

Enterobacteriaceae -heimon bakteerien virulenssitekijöihin kuuluvat kapseli, adhesiinit, fimbriat, flagellat sekä erilaiset toksiniit. Kapseli suojaa bakteeria kuivumiselta ja sen limainen pinta tehostaa bakteerin kiinnittymistä limakalvoille (Moxley 2013a), minkä lisäksi se suojaa bakteeria fagocytoosilta ja toimii antigeeninä (M- ja K-antigeenit) (katsauksessa Gupta ym. 2003). Adhesiinit ovat bakteerien pinnan rakenteita, joilla ne kykenevät tarttumaan muihin pintoihin, ja jotka toimivat myös antigeeneinä. Fimbriat ovat ohuita säikeitä bakteerisolun pinnalla, ja myös ne tehostavat bakteerin kiinnittymistä pintoihin. Flagellat eli värekarvat ovat bakteerin pinnalla olevia siimoja, jotka ovat *Enterobacteriaceae* -heimon bakteereilla sijoittuneet peritrikkisesti eli tasaisesti bakteerisolun pinnalle. Flagellojen avulla bakteerit kykenevät liikkumaan (Moxley 2013a). *Enterobacteriaceae* -heimon bakteereista muun muassa *Escherichia coli* ja *Klebsiella pneumoniae* pystyvät lisäksi tuottamaan sideroforeja (esimerkiksi enterobaktiini ja aerobaktiini) (katsauksessa Griffiths 1991 ja Gupta ym. 2003), joiden avulla ne pystyvät sitomaan rautaa tehokkaasti ympäristöstään ja isännän rautaa sitovista proteiineista silloin, kun raudan puute rajoittaa niiden kasvua ja lisääntymistä. Sideroforien avulla bakteerit pystyvät siis parantamaan kasvumahdollisuuksiaan heikentäen samalla isännän puolustuskykyä (katsauksessa Griffiths 1991).

2.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli on sekä eläinten että ihmisten suoliston, etenkin paksusuolen, kommensaali bakteeri, paksuudeltaan 0,5 µm ja pituudeltaan 1-3 µm (Moxley 2013b). Kolibakteerit aiheuttavat infektoita tyypillisesti opportunistisesti, mutta on olemassa myös primaaristi patogeenisia *E. coli* -kantoja. Opportunistisia, *E. coli*:n aiheuttamia infektoita ovat virtsatietulehdukset (etenkin naarailla), märkäkohtu, utaretulehdukset ja haavainfektiot. Virtsatietulehduksista *E. coli* aiheuttaa ehdottomasti valtaosan, jopa yli 75% infektoista (katsauksessa Mann ym. 2017). Primaaristi patogeeniset *E. coli*:t aiheuttavat pääasiassa suolistotulehduksia ja ekstraintestinaalisia oireita (Quinn ym. 2011b ja Moxley 2013a), ja ne luokitellaankin edelleen enteeriisiin ja ekstraintestinaalisiin kolibakteereihin (Taulukko 1 ja 2).

Taulukko 1. Enteriset kolibakteerit eri eläinlajeilla (Quinn ym. 2011b, Moxley 2013a).

	Enteriset kolibakteerit		
Nimitys	ETEC eli enterotoksigeeninen <i>E. coli</i>	EPEC eli enteropatogeeninen <i>E. coli</i>	EHEC eli enterohemorraginen <i>E. coli</i> ; myös STEC eli shigatoksiinia tuottava <i>E. coli</i>
Kohde-eläimet	Vastasyntyneet porsaas, vasikat, karitsat, koiranpennut, varsat, vieroitetut siat	Monet eläinlajit, myös ihmiset.	Nauta tärkein reservuaari, sika, ihminen
Oireet	Vetinen, veretön ripuli	Limainen ja krooninen ripuli	Sioilla ödeematauti (ihonalainen turvotus etenkin pään alueella), ihmisillä verinen, jopa henkeä uhkaava ripuli
Patomekanismi	Tuottaa useita enterotoksiineja, jotka lisäävät nesteen erittymistä suoleen ja vähentävät nesteen absorptiota. Ei vaikuta enterosyyttien rakenteeseen.	Tarttuessaan epiteelisolun pintaan tuhoaa mikrovillukset, jolloin absorptio heikkenee	Tuottaa toksiniä, joka aiheuttaa solukuolemia ja veristä ripulia. Sioilla solukuolemat aiheuttavat ödeematautia.

Taulukko 2. Ekstraintestinaaliset kolibakteerit eri eläinlajeilla (Conceição ym. 2012, Moxley 2013a, Mann ym. 2017)

	Ekstraintestinaaliset kolibakteerit		
Nimitys	SEPEC eli sepsistä aiheuttava <i>E. coli</i>	UPEC eli uropatogeeninen <i>E. coli</i>	APEC eli lintujen <i>E. coli</i> (avian pathogenic <i>E. coli</i>)
Kohde-eläimet	Monet eläinlajit, myös ihmiset	Monet eläinlajit, myös ihmiset, reservuaarina suolistossa	Kanat, kalkkunat, muut lintulajit

Oireet	Sepsiksen oireet, kuten korkea kuume, yleiskunnon nopea heikkeneminen	Virtsatietulehduksen oireet, kuten tiheä virtsaamistarve, kivulias virtsaaminen	Ripuli, hengitystieoireet (ilmapussintulehdus, pneumonia), abortit
Patomekanismi	Pääsee verenkiertoon tyypillisimmin virtsateiden kautta, aiheuttaa yleisen tulehduksen	Kontaminoi virtsatiet ja tunkeutuu virtsarakon epiteeliin	<i>E. coli</i> pääsee hengitysteihin ja verenkiertoon ilmapussien kautta

2.2.2 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae on eläinten ja ihmisten suoliston ja limakalvojen kommensaali bakteeri, pituudeltaan 1-2 µm, joka aiheuttaa eläimillä opportunistisia infektoita, kuten virtsatietulehduksia, keuhkokuumetta, utaretulehduksia ja sukuelintulehduksia kuten kohtutulehduksia (Quinn ym. 2011b). Klebsiellaa on yleisesti kaikkialla luonnossa, kuten vesistöissä, maaperässä ja kasveissa (katsauksessa Gupta ym. 2003).

2.3 Beetalaktaamit

Beetalaktaamit ovat sekä ihmisillä että eläimillä yleisimmin käytettyjä mikrobilääkkeitä (Palzkill 2013), joten bakteerien hankkima vastustuskyky ja siitä johtuvat vaikeahoitoiset infektiot aiheuttavat laajoja ongelmia sekä ihmis- että eläinkunnalle. Beetalaktaameihin kuuluvia mikrobilääkkeitä ovat penisilliinit, beetalaktaami-beetalaktamaasi-inhibiittorikombinaatiot, kefeemit (I-V polven kefalosporiinit), monobaktaamit ja karbapeneemit (Männistö & Tuominen 2017, Taulukko 3). Beetalaktaamit ovat yleisesti laajakirjoisia, eli ne tehoavat pääasiassa sekä grampositiivisiin että gramnegatiivisiin bakteereihin, niin aerobeihin kuin anaerobeihinkin (Männistö & Tuominen 2017). Teho vaihtelee kuitenkin eri aineryhmien välillä siten, että penisilliinit tehoavat paremmin grampositiivisiin bakteereihin ja kefalosporiinit sekä karbapeneemit paremmin gramnegatiivisiin bakteereihin. Beetalaktaamit ovat bakteereja tappavia (bakteriosidisiä) sekä aikariippuvaisia. Bakteerin tuhoutumiseen vaikuttaa siis aika: mikrobilääkkeen pitoisuuden tulee ylittää MIC-arvo (*minimum inhibitory concentration* eli pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus) riittävän kauan, eikä bakteerin tuhoutuminen tehostu, vaikka lääkeainepitoisuutta

nostettaisiin. Useimmilla beetalaktaameilla on myös varsin lyhyt puoliintumisaika (noin ½-1 tuntia), mikä myös vaikuttaa aikariippuvuuteen (Männistö & Tuominen 2017).

Beetalaktaamien toiminta perustuu siihen, että ne estävät bakteerin soluseinäsynteesin, minkä takia ne tehoavat vain soluseinällisiin bakteereihin (Palzkill 2013). Tämän takia esimerkiksi soluseinättömät *Mycoplasma* -suvun bakteerit ovat luontaisesti resistenttejä beetalaktaameille (Bébéar & Pereyre 2015). Bakteeri tuottaa transseptidaasi-entsyymiä (muilta nimityksiltään PBP eli penicillin binding protein eli penisilliiniä sitova proteiini), jota se tarvitsee soluseinänsä peptidoglykaanin muodostamiseen. Beetalaktaamien beetalaktaamirengas sitoo bakteerin tuottamaa transseptidaasi-entsyymiä, jolloin muodostuu kovalenttinen sidos, joka inaktivoi transseptidaasin. Tällöin bakteeri ei saa muodostettua soluseinänsä, jolloin se hajoaa ja bakteeri kuolee (Palzkill 2013).

Taulukko 3. Beetalaktaami-mikrobilääkkeiden luokittelu eri lääkeryhmiin (Männistö & Tuominen 2017, Pharmaca Fennica Veterinaria 2018).

Lääkeryhmä	Alaryhmä	Lääke-esimerkki
Penisilliinit	Bentsyylipenisilliinit	G-penisilliini, V-penisilliini
	Aminopenisilliinit	ampisilliini, amoksisilliini
Beetalaktamaasien estäjät		klavulaanihappo, sulbaktami
Kefeemit	I polven kefalosporiinit	kefaleksiini, kefalotiini, kefadroksiili
	II polven kefalosporiinit	kefuroksiimi, kefaklori
	III polven kefalosporiinit	kefotaksiimi, keftatsidiimi, keftriaksoni, kefovesiini, keftiofuuri
	IV polven kefalosporiinit	kefepiimi
	V polven kefalosporiinit	keftaroliini
Monobaktaamit		atstreonaami
Karbapeneemit		meropeneemi, imipeneemi

2.3.1 Bentsyylipenisilliinit

Bentsyylipenisilliinit, kuten G-penisilliini, ovat kapeakirjoisimpia penisillinejä (Männistö & Tuominen 2017), jotka tehoavat lähinnä grampositiivisiin bakteereihin kuten streptokokkeihin ja stafylokokkeihin (Prescott 2013c). Ne imeytyvät huonosti suun kautta, sillä mahalaukun happamat olosuhteet hajottavat niitä ja imeytymistä tapahtuu lähes ainoastaan ohutsuolen alkuosassa pohjukaissuolessa. Bentsyylipenisilliinit ovat heikosti rasvaliukoisia, ionisoituvat plasman pH:ssa ja sitoutuvat plasman proteiineihin 40-50%, minkä takia ne kulkeutuvat kudoksiin heikosti. Koska penisilliinit eliminoidaan pääasiassa munuaisten kautta, virtsassa saavutetaan korkeat pitoisuudet. Haittavaikutuksina voi olla ruoansulatuskanavan häiriöt ja eläimillä harvinaisempana allergiset reaktiot (Prescott 2013c).

2.3.2 Aminopenisilliinit

Aminopenisilliinit, kuten ampisilliini ja amoksisilliini, ovat laajakirjoisia penisillinejä. Koska kirjo gramnegatiivisiin bakteereihin paranee beetalaktaamien ryhmässä alaspäin mentäessä (taulukko 3), aminopenisilliineillä on tehoa myös gramnegatiivisiin bakteereihin (kuten *E. coli*, *Proteus* spp., *Salmonella* spp.) (Prescott 2013c). Aminopenisilliinit eivät kestä muun muassa stafylokokkien tuottamaa penisillinaasia, minkä takia aminopenisilliinejä käytetään harvoin yksinään bakteeri-infektoiden hoidossa. Yhdistettynä beetalaktamaasi-inhibiittorien, kuten klavulaanihapon, kanssa aminopenisilliineillä saavutetaan parempi bakteriosidinen teho myös stafylokokkeja vastaan (Männistö & Tuominen 2017).

Laajakirjoisten mikrobilääkkeiden haittavaikutuksena on se, että ne aiheuttavat herkemmin häiriöitä suoliston normaalimikrobistoon. Aminopenisilliinit voivat aiheuttaa klostridi-bakteerien ylikasvua ja ripulia, minkä takia niitä ei tulisi antaa jyrsijöille, kaneille tai hevosille, joille suoliston mikrobit ovat tärkeitä ruoansulatuksen kannalta (Prescott 2013c).

2.3.3 Beetalaktamaasien estäjät

Beetalaktamaasi-inhibiittorit (kuten klavulaanihappo ja sulbaktami) sitoutuvat beetalaktaameille resistentin bakteerin tuottamaan beetalaktamaasiin ja inaktivoivat sen. Klavulaanihapolla on yksinään heikko antimikrobinen vaikutus ja sulbaktamilla vielä

klavulaanihappoakin heikompi, mutta beetalaktaamiin (kuten aminopenisilliiniin) yhdistettynä niillä voidaan parantaa lääkeaineen tehoa. Suomessa klavulaanihappo on myyntiluvallisena vain amoksisilliiniin yhdistettynä (Männistö & Tuominen 2017). Beetalaktamaasi-inhibiittorien haittavaikutukset ovat kuin muillakin beetalaktaameilla: ruoansulatuskanavan oireet kuten ripuli ja pahoinvointi sekä yliherkkyysoireet (Prescott 2013a).

2.3.4 Kefeemit

Kefeemit ovat laajakirjoisia ja ne tehoavat penisilliinejä paremmin gramnegatiivisiin bakteereihin, ja vastaavasti teho grampositiivisiin bakteereihin on huonompi (Männistö & Tuominen 2017). Kefeemit jaetaan edelleen I-V polven kefalosporiineihin (Taulukko 3). Farmakokineettisesti kefalosporiinit ovat samankaltaisia muiden beetalaktaamiryhmän mikrobilääkkeiden kanssa: ne ovat bakteriosidisiä, imeytyvät kohtalaisen huonosti ruoansulatuskanavasta ja eliminoiduvat pääasiassa munuaisten kautta (Prescott 2013b). Kefalosporiinien rakenne eroaa hieman penisilliinien rakenteesta, minkä takia kefalosporiinit ovat vastustuskykyisempiä bakteerien tuottamia beetalaktamaaseja vastaan (Prescott 2013b).

Osan kolmannen ja neljännen polven kefalosporiinien käyttö on rajattu vain humaanipuolelle vaikeiden infektioiden hoitoon, minkä takia niiden käyttöä eläinlääkinnässä on rajoitettu (Prescott 2013b). Valtioneuvoston asetuksen (VNa) 1054/2014 11§:n mukaan kolmannen ja neljännen polven kefalosporiinien käyttö on lähtökohtaisesti kielletty kaikilla eläinlajeilla. Niitä saa kuitenkin käyttää eläimille luotettavaan mikrobiologiseen diagnoosiin ja herkkyyssääntelyyn perustuen, edellyttäen, että mitään muuta tehokasta lääkeainetta ei ole käytettävissä (MMM 17/14 liite 2 luku 5). Lääkeainevalmisteen tulee lisäksi olla eläimille myyntiluvallinen Suomessa ja lääkeainetta saa käyttää vain myyntiluvassa määritellylle kohde-eläimelle ja mainittuun indikaatioon (VNa 1054/2014, 11§). Vuonna 2018 3. polven kefalosporiineista on keskitetty myyntilupa pieneläimille kefovesiinistä (Lääketietokeskus 2018) ja tuotantoeläimille keftiofuurista (Evira 2018b).

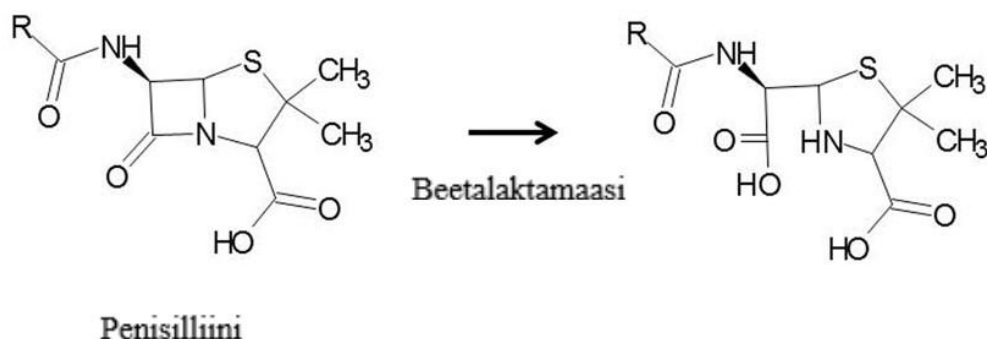
2.3.5 Monobaktaamit ja karbapeneemit

Monobaktaamit ja karbapeneemit ovat kaikista laajakirjoisimpia mikrobilääkkeitä tehoten lähes kaikkiin aerobisiin ja anaerobisiin grampositiivisiin ja gramnegatiivisiin kokki- ja

sauvabakteereihin (Prescott 2013a), myös *Pseudomonas aeruginosaan*, joka on luonnollisesti resistensti useimmille beetalaktaamiryhmän mikrobilääkkeille. Resistenssin kehittymisen välttämiseksi niiden käyttöä on rajoitettu humaanilääketieteen puolelle vaikeiden infektioiden hoitoon. Samoin kuin 3. ja 4. polven kefalosporiinien kohdalla, monobaktaamien ja karbapeneemien käyttö on lähtökohtaisesti kielletty kaikilla eläinlajeilla (VNa 1054/2014, 11§), mutta niitä saa käyttää herkkyysmäärittelyyn perustuen (MMM 17/14 liite 2 luku 5), jos kohde-eläimelle ja kohdeindikaatioon on olemassa myyntiluvallinen valmiste Suomessa (VNa 1054/2014, 11§). Eläimille myyntiluvallisia valmisteita ei ole vuonna 2018, joten monobaktaamien ja karbapeneemien käyttö on käytännössä kiellettyä eläimillä (Lääketietokeskus 2018, Evira 2018b). Karbapeneemien haittavaikutuksiin kuuluu ruoansulatuskanavan häiriöt, kuten ripuli ja pahoinvointi sekä yliherkkyysreaktiot, kuten myös monobaktaameilla (Prescott 2013a).

2.4 Beetalaktamaasien aiheuttaman resistenssin taustaa

Bakteerin tuottama ESBL-entsyymi voi olla plasmidivälitteinen, jolloin bakteerin plasmidissa on beetalaktamaasi-entsyymiä koodaava geeni, mutta geeni voi olla myös bakteerin kromosomissa (Palzkill 2013). Resistenttigeenin leviäminen tapahtuu kuitenkin tietävästi vain plasmidien välityksellä (katsauksessa Jalava ym. 2013). Resistenttigeenin ansiosta bakteeri tulee vastustuskykyiseksi beetalaktaami-mikrobilääkkeitä vastaan tuottamallaan beetalaktamaasillaan, jonka toimintaperiaate on kuvattu alla (Kuva 1, Palzkill 2013).



Kuva 1. Beetalaktamaasi hydrolysoi beetalaktaamin beetalaktaamirenkään aminosidoksen tehden mikrobilääkkeen tehottomaksi. Kuva on yksinkertaistettu versio Palzkill (2013) artikkelista.

Bakteeri voi tulla resistentiksi beetalaktaamille myös siten, että sen tuottaman transpeptidaasin rakenteessa tapahtuu jokin muutos, minkä takia sen affiniteetti beetalaktaami-mikrobilääkkeeseen heikkenee (katsauksessa Rice 2011). Tällainen transpeptidaasin muutos on yleensä grampositiivisten bakteerien, kuten metisilliiniresistentin *Staphylococcus aureus* -bakteerin (MRSA), resistenssin taustalla (Palzkill 2013).

Samassa plasmidissa voi olla myös muita resistenssiä aiheuttavia geenejä, minkä takia ESBL-bakteerit ovat usein beetalaktaamien lisäksi resistenttejä myös muita mikrobilääkkeitä, kuten fluorokinoloneja, aminoglykosideja, tetrasyklinejä ja sulfonamidi-trimetopriimiyhdistelmiä vastaan (katsauksessa Gupta ym. 2003, Coque ym. 2008, Huber ym. 2013).

Bakteerit voivat saada ESBL-ominaisuuden muilta bakteereilta konjugaation kautta (Mattila ym. 2017). Konjugaatiossa bakteeri siirtää plasmidin geneettistä materiaalia toiseen bakteeriin suorassa kontaktissa. Gramnegatiivisilla bakteereilla konjugaatio tapahtuu piluksen välityksellä, kun taas grampositiivisilla bakteereilla konjugaatioon riittää pelkkä bakteerien välinen suora kontakti yksinkertaisemman soluseinärakenteen johdosta (Quinn ym. 2011a). Bakteeri voi saada ESBL-ominaisuuden myös muuntumalla runsaan mikrobilääkkeiden käytön seurauksena. Erityisesti laajakirjoisten mikrobilääkkeiden, kuten kolmannen ja neljännen polven kefalosporiinien, käyttö altistaa vastustuskyvyn kehittymiselle (Eveillard & Schmit 2002, Rawat & Nair 2010).

Bakteerit voivat olla myös luonnollisesti resistenttejä beetalaktaameja vastaan. Esimerkiksi *Enterobacteriaceae* -heimon bakteerit ovat luonnostaan resistenttejä G-penisilliinille ja *Klebsiella pneumoniae* on lisäksi luonnostaan resistentti aminopenisilliineille. Ympäristössä ja eläinten ja ihmisten iholla ja limakalvoilla yleisesti elävä opportunistinen bakteeri *Pseudomonas aeruginosa* on myös luonnollisesti resistentti useimmille beetalaktaameille kuten penisilliinille, aminopenisilliinille ja kefalosporiineille (THL 2009).

2.5 ESBL-tuoton tutkiminen

2.5.1 Kiekkoherkkyysmenetelmä

Mikrobilääkityksen tulisi perustua herkkyysmäärittelyyn. Bakteerin herkkyys eri mikrobilääkkeille voi tutkia muun muassa kiekkoherkkyysmenetelmällä. Menetelmä sopii

etenkin aerobisten ja fakultatiivisesti anaerobien, nopeasti kasvavien bakteerien herkkyysien määrittämiseen (Evira 2016a).

Menetelmän periaatteena on valita puhdasviljelmältä pesäkkeet, joiden bakteerikasvu sekoitetaan liemeen. Liemi levitetään agarmaljalle tasaisesti. Tämän jälkeen maljalle asetetaan tutkittavaa mikrobilääkettä sisältävä kiekko. Mikrobilääke imeytyy kiekosta elatusaineeseen siten, että mitä kauemmaksi kiekosta mennään, sitä pienempi on mikrobilääkkeen pitoisuus. Mikrobilääke estää bakteerin kasvun kiekon ympärillä, kunnes maljalle imeytyneen mikrobilääkkeen määrä on alle bakteerin MIC-arvon. Estovyöhykkeen halkaisija millimetreinä kertoo bakteerin herkkyydestä tiettyä mikrobilääkettä kohtaan, ja estovyöhykkeen halkaisijan perusteella bakteeri luokitellaan joko mikrobilääkkeelle herkäksi (S=sensitive), herkkyydeltään heikentyneeksi (I=intermediate) tai resistentiksi (R=resistant). Herkkyystuloksia tilastoidessa ja raportoidessa I ja R yhdistetään samaan kategoriaan ”ei-herkät”. Tulkintarajat on määritetty jokaiselle bakteeri- ja mikrobilääkeyhdistelmälle erikseen (Ruokavirasto 2016a).

2.5.2 E-testi

E-testillä eli epsilontestillä (myös gradienttiliuskamenetelmä) saadaan mitattua suoraan lääkeaineen pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus (MIC-arvo) (katsauksessa Barth Reller ym. 2009). E-testiä voidaan käyttää sekä gramnegatiivisten että grampositiivisten bakteerien herkkyysien tutkintaan (bioMérieux SA 2012). Bakteerikasvu sekoitetaan liemeen, jota levitetään agarmaljalle. Maljalle asetetaan kaupallinen liuska, joka sisältää pitoisuudeltaan jatkuvasti lisääntyvän määrän mikrobilääkettä. Viljelymaljan koosta riippuen yhdelle maljalle voidaan asettaa kerrallaan 1-6 liuskaa. Mikrobilääkettä alkaa imeytyä viljelymaljalle heti liuskan asettamisen jälkeen, ja liuskan ympärille muodostuneen estovyöhykkeen perusteella (Kuva 2). MIC-arvo voidaan lukea suoraan liuskalta valmistajan ohjeiden mukaisesti (bioMérieux SA 2012).



Kuva 2. E-testissä MIC-arvo luetaan liuskalta siitä kohtaa, missä ellipsin muotoinen estovyöhyke kohtaa liuskan MIC-asteikon. Kuva on muokattu Barth Reller ym. (2013) katsauksesta.

2.5.3 Liemilaimennosmenetelmä

Liemilaimennosmenetelmällä (*broth microdilution*) saadaan myös selvitettyä lääkeaineen pienin bakteerin kasvua estävä pitoisuus (MIC-arvo). Liemilaimennos voidaan suorittaa joko koeputkissa yhdelle lääkeaineelle kerrallaan tai esimerkiksi 96-kuoppalevyllä usealle eri mikrobilääkkeelle samanaikaisesti (CLSI 2013a).

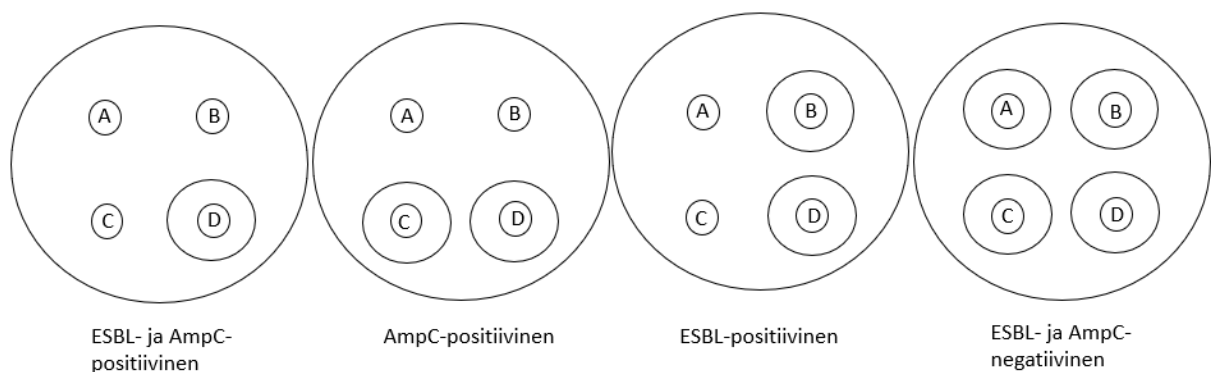
Liemilaimennoksessa useita bakteeripesäkkeitä sekoitetaan Müller-Hinton -liemeen, joka edelleen laimennetaan Müller-Hinton -liemessä. Laimennettua lientä pipetoidaan kuoppalevyn kaivoihin, jotka sisältävät mikrobilääkkeitä eri pitoisuuksilla. Kuoppalevy peitetään ja sitä inkuboidaan 37°C:ssa vuorokauden ajan, minkä jälkeen tulokset voidaan tulkita. Se lääkeainepitoisuus, jolla ei enää havaita bakteerikasvua kuopassa, tulkitaan MIC-arvoksi (CLSI 2013a).

2.5.4 ESBL- ja AmpC -fenotyypin testaamiseen käytettävät kiekot

Mikrobilääkeherkkyystutkimusten lisäksi bakteerin ESBL-ominaisuutta voi tutkia kiekkoilla, jotka ovat kohdennettuja ESBL- ja AmpC-seulontaan. Kiekkojen avulla voidaan siis erottaa, onko bakteeri ESBL- vai AmpC- tuottaja, vai tuottaako se kenties molempia entsyymejä (Kuva 3). AmpC-entsyymiä tuottava bakteeri hydrolysoi tehokkaammin kefalosporiineja kuin

bentsyyliipenisilliinejä (katsauksessa Jacoby 2009), eikä beetalaktamaasi-inhibiittori, kuten klavulaanihappo, vaikuta siihen estävästi (Rawat & Nair 2010).

Fenotyypin testaamisessa käytetään neljää kiekkoa (esimerkkinä A, B, C ja D, kuva 3). A-kiekko sisältää kolmannen polven kefalosporiinia kefpodoksiimia, B-kiekko sisältää kefpodoksiimin lisäksi ESBL-inhibiittoria ja vastaavasti C-kiekko sisältää kefpodoksiimin lisäksi AmpC-inhibiittoria. D-kiekkossa on kefpodoksiimin lisäksi sekä ESBL- että AmpC-inhibiittoria. Mikäli bakteerikanta on ESBL:n tuottaja, se kasvaa kiinni A- ja C-kiekkoihin, mutta ESBL-inhibiittoria sisältävä B- ja D-kiekkot muodostavat estovyöhykkeen bakteerikantaa sisältävälle elatusalustalle, koska kiekkoissa oleva ESBL-inhibiittori estää bakteerin tuottaman beetalaktamaasin vaikutuksen. Mikäli bakteerikanta on AmpC-tuottaja, se vastaavasti kasvaa kiinni A- ja B-kiekkoihin, mutta C- ja D-kiekkojen ympärille saadaan maljalle estovyöhyke. Jos bakteeri tuottaa sekä ESBL- että AmpC-entsyymejä, se kasvaa kiinni A-, B- ja C-kiekkoihin, mutta vasta molempia inhibiittoreita sisältävä D-kiekko muodostaa maljalle estovyöhykkeen. Negatiivisilla kannoilla estovyöhyke muodostuu jokaisen kiekon ympärille (Ruokavirasto 2018a).



Kuva 3. ESBL- ja AmpC-tuoton tutkiminen fenotyypin testaamiseen käytettävillä, eri mikrobilääkkeitä ja entsyymi-inhibiittoreita sisältävillä kiekkoilla.

2.6 ESBL:n epidemiologiaa

Tärkeimmät ESBL:n geeniperheet ovat TEM, SHV ja CTX-M (katsauksessa Jalava ym. 2013), joista nykyään yleisin on CTX-M -tyypin ESBL (Hawkey 2011).

Ensimmäinen TEM-tyypin beetalaktamaasi (TEM-1) eristettiin Kreikassa vuonna 1965, ja se sai nimensä potilaan (”Temoneira”) mukaan (katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). TEM-tyypin beetalaktamaasi oli resistentti penisilliinille ja ensimmäisen polven kefalosporiinille. 1970-luvulla kuvattiin ensimmäisen kerran SHV-tyypin ESBL, joka oli myös resistentti penisilliiniä ja ensimmäisen polven kefalosporiineja vastaan. SHV on lyhenne sanoista ”sulfhydryl reagent variable” (katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). TEM:n ja SHV:n mutaatiot alkoivat lisääntyä 1980-luvulla ja muuttuivat resistenteiksi myös kolmannen polven kefalosporiineille (katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). ESBL-ominaisuus havaittiin ensimmäisen kerran *Klebsiella pneumoniae* -bakteerilta Euroopassa vuonna 1983 (Knothe ym. 1983).

2000-luvun alussa CTX-M-tyypin ESBL nousi dominoivaksi ja on nykyäänkin yleisin ESBL-tyyppi (Hawkey 2011, katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). CTX viittaa entsyymin aktiivisuuteen kolmannen polven kefalosporiinia kefotaksiimia (lyhenne CTX) vastaan ja M viittaa Müncheniin, jossa tämäntyyppiset entsyymit löydettiin ensimmäisen kerran (katsauksessa Rubin ja Pitout 2014). Eläimiltä CTX-M tyypin ESBL löydettiin vuonna 1986 Japanissa laboratoriokoiran ulosteesta (Matsumoto ym. 1988). Yleistymään ne alkoivat kuitenkin vasta 2000-luvulla.

Aluksi ESBL oli ihmisillä lähinnä *Klebsiella* -suvun bakteerien ominaisuus ja se löytyi vakavasti sairailta ihmisiltä sairaalaolosuhteissa, mutta nykyään ESBL löytyy useammin *E. coli* -bakteereista ja oireettomilta kantajilta, myös eläimiltä (Coque ym. 2008, Meyer ym. 2012). Eläimillä ESBL:ää on eristetty ainakin koirista, kissoista, hevosista ja tuotantoeläimistä (Rubin ym. 2014).

2.7 Riskitekijät ESBL:lle

Tutkimusten perusteella on löydetty monia mahdollisia riskitekijöitä ESBL-tartunnalle. Tärkeimpiä riskitekijöitä ESBL-tartunnalle eläimillä ovat mikrobilääkkeiden käyttö, sairaalaympäristö (Gibson ym. 2011a) ja raakaruokinta (Nilsson ym. 2015, Baede ym. 2017, Wedley ym. 2017). Ihmisillä myös ulkomaanmatkailu riskimaihin on todettu olevan merkittävä riskitekijä ESBL-tartunnalle (Tham ym. 2013). Riskitekijöitä tulkitaan usein *odds ratio*:n (OR, suhteellinen tautipaine) avulla, joka kertoo, kuinka merkittävä riskitekijä on suhteessa ESBL-

tartunnan saamiselle. Mitä suurempi OR-luku on, sitä suuremman tautipaineen riskitekijälle altistuminen aiheuttaa (Rita & Virtala 2013).

2.7.1 Mikrobilääkkeiden käyttö

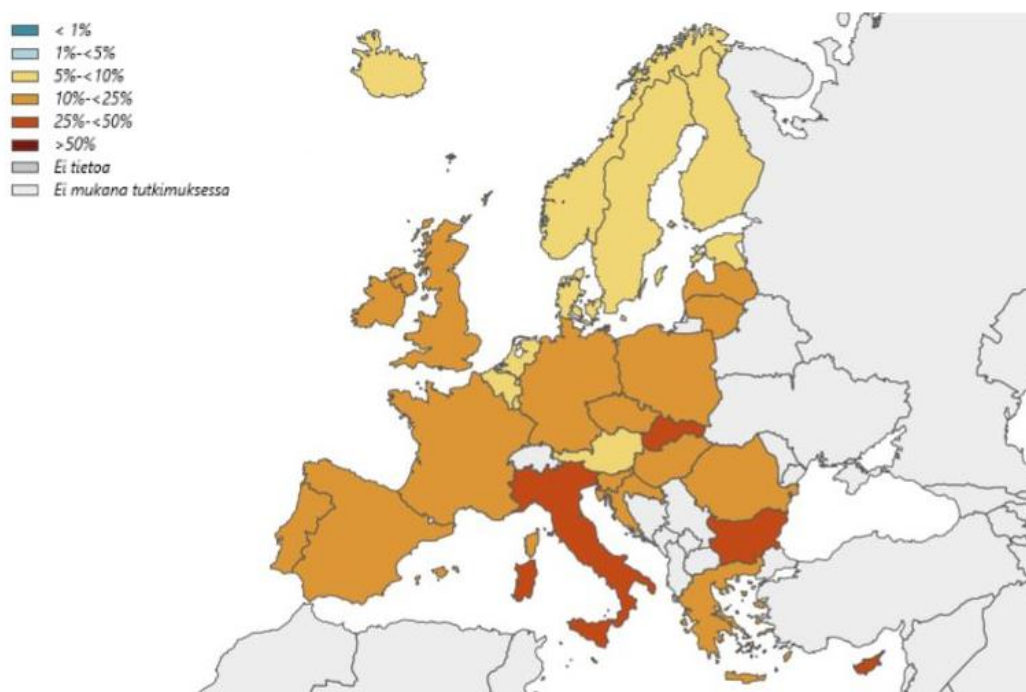
Yksi tärkeimmistä riskitekijöistä ESBL:lle, ja yleensäkin antibioottiresistenssin muodostumiselle, on mikrobilääkkeiden käyttö (Gibson ym. 2011a). Etenkin suun kautta annettuna mikrobilääkkeet voivat häiritä suoliston normaaliflooraa, jolloin patogeenisillä bakteereilla on mahdollisuus päästä lisääntymään paremmin. Joukossa voi olla mutatoituneita ja resistenttejä bakteereja, jotka voivat siirtää resistenttogeneenejä muille bakteereille konjugaation kautta. Gibsonin ym. (2011a) tekemässä tutkimuksessa etenkin kefalosporiinien ($p=0,001$; OR 5,18) ja fluorokinolonien ($p=0,028$) käyttö osoittautui riskitekijäksi antibioottiresistentin *E. coli* -bakteerin muodostumiselle. Toisessa tutkimuksessa koirat, jotka olivat saaneet mikrobilääkkeitä viimeisen vuoden aikana, olivat todennäköisemmin ESBL:n kantajia verrattuna koiriin, jotka eivät olleet olleet mikrobilääkityksellä ($p=0,003$; OR 7,85) (Belas ym. 2014).

2.7.2 Ulkomaanmatkailu

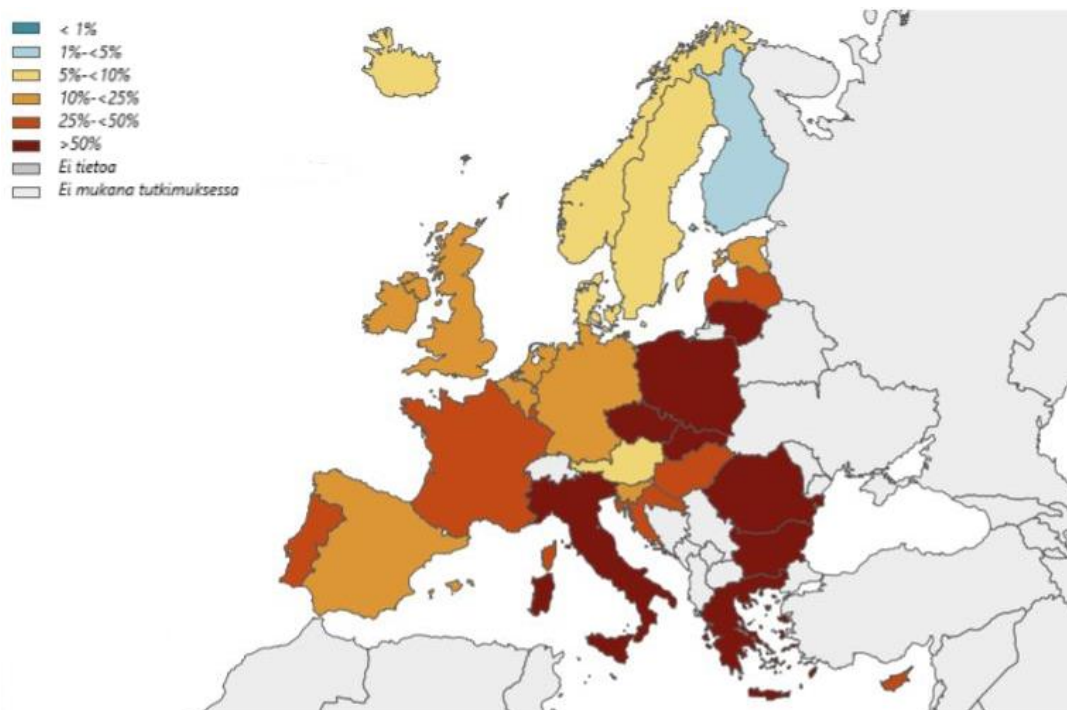
ESBL:n esiintyvyys ihmisillä vaihtelee eri maissa. Matalimmat resistenssiprosentit ovat Pohjoismaissa ja korkeimmat resistenssiprosentit ovat Itä- ja Etelä-Euroopan maissa (Kuva 4, 5) sekä Aasiassa ja Etelä-Amerikassa, missä ESBL:ää löytyy endeemisenä sekä sairaalaympäristössä että oireettomilta kantajilta (Coque ym. 2008).

Tuontikoirien (muun muassa ulkomaisten koiratarhojen rescuekoirien) on todettu olevan korkeammassa riskissä moniresistenttien bakteerien, kuten ESBL-bakteerien, kantajuudelle (Helsingin yliopisto 2017). Tähän vaikuttanee lähtömaan alempi hygieniataso, mikrobilääkkeiden runsas käyttö ja suurempi tautipaine, kun koirat elävät läheisessä kontaktissa toistensa ja ympäristön kanssa. Portugalissa tehdyssä tutkimuksessa on todettu, että koiratarhoissa ja kenneleissä koirilla on jopa kolme kertaa suurempi paine tulla ESBL-kantajaksi verrattuna koiriin, jotka ovat yksityisomistuksessa (Belas ym. 2014). Rescuekoiria ulkomailta tuovat yhdistykset testauttavatkin osan koirista moniresistenttien bakteerien, kuten ESBL:n varalta ennen koirien tuomista Suomeen (Kulkurit ry 2017, Viipurin koirat ry 2017).

Ulosteen ESBL-esiintyvyyttä on tutkittu ulkomailla matkustavilta ihmisiltä ja kyselylomakkeiden avulla on selvitetty muita mahdollisia altistus- ja riskitekijöitä. Saksassa tehdyssä tutkimuksessa 3,5 % (8/231) tutkituista ihmisten ulostenäytteistä oli ESBL-positiivisia. Kyselylomakkeen perusteella riskitekijöinä ESBL-positiivisuudelle olivat matkustus Kreikassa (OR 15,2; $p=0,002$) tai Afrikan maissa (OR 14,8; $p=0,009$) sekä kontakti lemmikkieläimiin (OR 6,7; $p=0,045$) (Meyer ym. 2012). Myös Tham ym. (2013) tutkimuksessa matkustus Aasiaan ja Keski-Idän alueelle todettiin ihmisillä riskitekijäksi ESBL-positiivisuudelle. ESBL-positiivisista 24 %:lla (14/58) oli matkustustaustaa kyseisillä alueilla (OR 3,9; $p=0,02$), kun taas ESBL-negatiivisista vain 7,5 % (4/53) oli matkustanut samoille alueille. Matkustusta Euroopassa ei todettu merkittäväksi riskitekijäksi, sillä ESBL-positiiviset ja -negatiiviset olivat matkustaneet Euroopan maihin yhtä paljon.



Kuva 4. Kolmannen polven kefalosporiineille resistenttien, ihmisiltä eristettyjen *Escherichia coli*-bakteerikantojen määrä prosentteina (%) eri maissa vuonna 2017. Karttakuvasta nähdään, että resistenssiprosentit ovat suurempia Etelä- ja Itä-Euroopassa kuin Pohjoismaissa. Kuva on muokattu ECDC:n katsauksesta 2017.



Kuva 5. Kolmannen polven kefalosporiineille resistenttien, ihmisiltä eristettyjen *Klebsiella pneumoniae* -bakteerikantojen määrä prosentteina (%) eri maissa vuonna 2017. Kuvasta nähdään, että resistenssiprosentit ovat erityisen suuria Etelä- ja Itä-Euroopassa. Kuva on muokattu ECDC:n katsauksesta 2017.

2.7.3 Eläinlääkärikäynnit ja sairaalaympäristö

Eläinlääkärikäyntien ja sairaalaympäristön on myös osoitettu lisäävän riskiä ESBL-bakteerin tartunnalle, sillä sairaalaympäristössä kontaktit mahdollisten ESBL-kantajien sekä kontaminoituneiden pintojen ja välineiden välillä lisääntyvät. Sairaalahoitoon saattaa myös liittyä mikrobilääkkeiden käyttöä, mikä edelleen lisää riskiä ESBL-kantajuudelle.

Gibsonin ym. tutkimuksessa (2011a) riski sille, että koirasta tulee moniresistentin *E. coli* -bakteerin kantaja sairaalahoidon aikana kasvoi, mitä kauemmin koira oli sairaalassa (4pv: OR 1,54; $p=0,442$, 7pv: OR 7,81; $p=0,004$, >9pv: OR 8,00; $p=0,004$). Tutkimuksessa havaittiin myös, että tautipaine oli suurempi silloin, jos koira oli jo ollut aikaisemmin sairaalahoidossa (OR 2,66; $p=0,009$), kuin että jos koira oli sairaalaympäristössä ensimmäistä kertaa (OR 1,94; $p=0,040$). Myös ihmisillä riskin ESBL-kantajuudelle on todettu kasvavan, jos sairaalahoito

kestää yli kuukauden ($p=0,01$, Tham ym. 2013). Ihmisillä myös kirurgisella osastolla olemisen ($p>0,01$; OR 5,3) on todettu lisäävän riskiä ESBL-positiivisuudelle (Tham ym. 2013).

2.7.4 Raakaruoka

Raakaruonan on todettu lisäävän riskiä ESBL-kantajuuden muodostumiselle (Nilsson ym. 2015, Baede ym. 2017). Etenkin siipikarja toimii mahdollisena reservuaarina antibioottiresistenteille bakteereille (Wedley ym. 2017), minkä lisäksi broilerinliha voi sisältää myös monia muita, etenkin ihmisille ruokamyrkytyksiä aiheuttavia mahdollisia patogeenejä, kuten kampakyobakteereja ja salmonellaa (Ruokavirasto 2018c, Ruokavirasto 2018e). Suomessa tehdyissä tutkimuksissa ESBL- bakteeria todettiin 3,9 %:ssa (14/356) teurastettavien broilerin ulostenäytteissä vuonna 2014 (FINRES-Vet 2013-2015). Teurassikojen ulostenäytteistä ESBL- bakteeria todettiin 0,3 %:ssa (1/306) vuonna 2015. Sianlihasta löydettiin vain yhdestä näytteestä ($n=303$) oletettavasti AmpC:ta tuottava *E. coli*. Nautojen kohdalla tutkittiin pelkästään lihanäytteitä ($n=300$), joista yhdestäkään ei eristetty ESBL- bakteeria vuonna 2015 (FINRES-Vet 2013-2015). Vuonna 2016 tehdyssä suomalaisessa tutkimuksessa ESBL- tai AmpC-tuottavaa *E. coli*-bakteeria löydettiin 0,8%:sta nautojen ulostenäytteistä (5/648) sekä 1,5%:sta sikojen (8/531) ja 8,1%:sta broilerin ulostenäytteistä (40/495) (Päivärinta ym. 2016).

Hollannissa tehdyssä tutkimuksessa Baede ym. (2017) tutkivat raakaruonan aiheuttamaa riskiä ESBL-kantajuudelle kissoilla. Tutkimuksessa havaittiin, että raakaruokaa syövien kissojen ulosteesta ESBL:ää löytyi 65 %:sta (37/57) näytteistä, kun taas raakaruokaa syömättömien kontrolliryhmän kissojen ulosteesta ESBL:ää löytyi vain 6 %:sta (3/51) näytteistä. Samoin 78 %:sta (14/18) raakaruoista viljeltiin ESBL-bakteeri, kun taas prosessoiduista kissanruoista ei löytynyt ollenkaan ESBL:ää.

Myös Ruotsissa tehdyssä tutkimuksessa oli tarkoituksena selvittää koirien raakaruonan hygieenistä laatua erityisesti ESBL-bakteerin suhteen (Nilsson ym. 2015). *E. coli* -bakteeria eristettiin kaikista raakaruokanäytteistä ($n=39$), mutta kuitenkin vain kahdessa tuotteessa sallittu eläinruoan *E. coli*-pitoisuus ylittyi. 23 %:sta näytteistä (9/39) löytyi laajakirjoisesti kefalosporiineille resistenttejä kolibakteereja. Raakaruonan syömistä voidaan siis pitää todellisena riskitekijänä ESBL-kantajuudelle.

Myös ihminen voi saada ESBL-tartunnan eläinten raakaruosta ristikontaminaation kautta, mikäli raakaruokaa käsiteltäessä käsihygieniasta ei pidetä huolta tai raakaruokaa käsitellään keittiössä samoilla välineillä kuin muitakin ruokia (Baede ym. 2017). Raakaruokaa lemmikeilleen syöttävien omistajien tulee kiinnittää huomiota hyvään hygieniaan raakaruokaa käsiteltäessä ristikontaminaation välttämiseksi. Elintarviketurvallisuusvirastolla on tarkemmat ohjeet siitä, kuinka raakaruokaa tulee käsitellä, jotta siinä mahdollisesti esiintyvien bakteerien kasvu, leviäminen ja tarttuminen ihmisiin saadaan estettyä (Evira 2018a).

2.7.5 Muut riskitekijät

Gibsonin ym. (2011b) tutkimuksessa havaittiin, että koiralla oli hieman suurempi riski kolonisoitua ESBL:llä, jos sillä oli jokin infektiivinen sairaus (kuten parodontiitti, virtsatietulehdus, korvatulehdus) verrattuna ei-infektiiviseen sairauteen (kuten diabetes, epilepsia, sydämen vajaatoiminta, immuunivälitteinen hemolyyttinen anemia; OR 0,32; $p=0,048$). Kuitenkin on huomioitava, että infektiiviseen sairauteen voi liittyä mikrobilääkekuuri, mikä myös lisää riskiä ESBL-kantajuudelle. Gibsonin ym. (2011b) tutkimuksessa havaittiin myös, että isoilta koirilta, etenkin saksanpaimenkoirilta moniresistenttiä *E. coli* -bakteeria löytyi enemmän verrattuna muihin koirarotuihin (OR 6,2; $p=0,020$), mutta siihen miksi näin oli, ei otettu kantaa. Tutkimuksessa havaittiin myös, että riski ESBL:lle oli suurempi kastroimattomilla uroskoirilla verrattuna muihin sukupuoliin (OR 4,94; $P=0,006$).

Myös muiden eläinten tai omien ulosteiden syömisen (koprofagia) on havaittu lisäävän riskiä ESBL-kantajuudelle eläimillä. Leite-Martinsin ym. (2014) tutkimuksessa 39 %:lta (119/307) koprofagiaan taipuvilta koirilta löytyi resistentti *E. coli* -kanta, kissoilla vastaava osuus oli 20 % (18/89). Eristetyt kannat olivat resistenttejä 6/15 tutkittua mikrobilääkettä vastaan, etenkin amoksisilliini-klavulaanihappoa ($p=0,002$; OR 10,35) sekä kefoksitiiniä (kefalosporiini) ($p=0,03$; OR 11,21) vastaan. Uloste voi sisältää resistenttejä bakteereja, jotka eläin saa itseensä syödessään ulostetta. Uloste voi myös sisältää jäämiä suun kautta annetuista mikrobilääkkeistä, jotka voivat itsessään aiheuttaa resistenttien bakteerien muodostumista eläimen suolistossa (Leite-Martins ym. 2014).

2.8 Zoonoottisuus

ESBL-entsyymejä tuottavat bakteerit ovat zoonoottisia, eli ne voivat tarttua eläimestä ihmiseen ja toisin päin (Ruokavirasto 2018g). Mahdollisina tartuntalähteinä ovat etenkin eläimet, joiden kanssa ihmiset ovat läheisessä kontaktissa, kuten koirat, kissat ja hevoset (Pomba ym. 2017). Läheisessä kontaktissa eläviltä eläimiltä ja ihmisiltä onkin löydetty usein samoja resistenttejä bakteerikantoja (Ljungquist ym. 2016, Wedley ym. 2017, Grönthal ym. 2018).

Ruotsissa tehdyssä tutkimuksessa tarkoituksena oli selvittää, löytyykö ESBL-positiivisten ihmisten koirilta samoja vastustuskykyisiä bakteereja. Kontrolliryhmänä oli ESBL-negatiivisiksi todettuja ihmisiä lemmikkeineen. 9 %:ssa (2/22) ESBL-positiivisissa talouksissa myös perheen koiralta löydettiin identtinen ESBL-kanta, kun taas ESBL-negatiivisissa talouksissa yksikään koira ei ollut ESBL:n kantaja (Ljungquist ym. 2016). Tämä antaa viitteitä siitä, että bakteerin ESBL-ominaisuus voi siirtyä ihmisten ja lemmikkien välillä. ESBL-bakteeri aiheuttaa ihmisille yleisimmin virtsatietulehduksia, ja se löytyykin yleensä virtsatietulehduksen yhteydessä virtsaviljelystä (Ruokavirasto 2018g).

2.9 ESBL:n vastustaminen eläinklinikoilla

ESBL:n vastustuksen tarkoituksena on vähentää sairastuvuutta ja estää resistenttien bakteerien leviäminen uusiin yksilöihin (Tham ym. 2013). Humaanipuolella ESBL:n vastustamisessa tärkeintä on huolehtia tavanomaisista varotoimista, kuten hyvästä käsihygieniasta, aseptiikasta ja suojainten (kuten hanskat, suojatakit, suusuojaimet) käytöstä kaikkien potilaiden kohdalla (Jalava ym. 2013, THL 2017). Nämä varotoimet ovat toteutettavissa myös eläinpotilaiden kanssa. Tärkeää ESBL:n, kuten myös muiden moniresistenttien bakteerien, vastustuksessa on lisäksi tunnistaa kantajat mahdollisimman varhaisessa vaiheessa ja vähentää mikrobilääkkeiden käyttöä vain niihin tapauksiin, kun niitä oikeasti tarvitaan (Evira 2016b).

Kädet tulee desinfioida ennen ja jälkeen potilaaseen koskemista, ennen aseptisia toimenpiteitä sekä ennen ja jälkeen suojakäsineiden käyttöä. Saippualla kädet pestään vain silloin, kun ne ovat näkyvästi tai tuntuvasti likaiset. Aseptisessä toiminnassa kaikki työt tehdään puhtaasta likaisempaan päin (Katariina Thomson, henkilökohtainen tiedonanto). Koska ESBL on kolonisoituneena suolessa ja limakalvoilla, erityisen tärkeää suojautuminen on silloin, kun

ollaan kontaktissa ulosteeseen ja limakalvoihin (Hawkey 2011) tai esimerkiksi infektoituneisiin, erittäviin haavoihin (Evidensia 2017). Tämä on tärkeä ohjeistaa myös omistajille. Kaikki tarhat niin klinikalla kuin kotonakin tulee siivota välittömästi pois hyvää käsihygieniää noudattaen. Koska ESBL tarttuu ulosteiden välityksellä, myös ulosteiden kerääminen ulkona on tärkeää etenkin silloin, jos lemmikki on todettu ESBL:n kantajaksi (Evidensia 2017).

Koska ESBL-kantajuus ei näy ulospäin, ainoa tapa tunnistaa mahdolliset kantajat on ottaa seulontanäytteitä. Potilas on hyvä seuloa ESBL:n varalta, jos se kuuluu riskiryhmään: sillä on tuontitaustaa, se on syönyt useita antibioottikuureja tai ollut sairaalahoidossa useasti tai pitkiä aikoja (Evira 2016b). Seulonta kannattaa myös silloin, jos esimerkiksi perheen toinen lemmikki tai perheenjäsen on todettu ESBL-kantajaksi. Seulontanäyte otetaan näytteenottotikulla, ja sen voi ottaa joko suoraan peräsuolesta tai kastamalla tikun ulosteeseen. Virhelähteiden vähentämiseksi ja ESBL-kantajuuden tunnistamiseksi seulontanäytteet suositellaan lähetettäväksi laboratorioon tutkittavaksi (Merja Rantala, henkilökohtainen tiedonanto).

Jos tiedetään, että potilas on ESBL-kantaja, se tulee merkitä potilaan tietoihin selkeästi. Oireilevasta infektiosta tulee myös tehdä kuukausi-ilmoitus Aluehallintovirastolle (MMM 1010/2013 9§, 1010/2013 13§). Omistajan tulee olla tietoinen lemmikkinsä ESBL-kantajuudesta, ja omistajan tulee kertoa siitä eläinklinikalle esimerkiksi ajanvarauksen yhteydessä, ennen kuin eläin viedään eläinlääkärille hoidettavaksi. Omistajan on hyvä kertoa hoitohenkilökunnalle lemmikkinsä ESBL-kantajuudesta myös silloin, jos joutuu itse sairaalahoitoon, sillä voi olla mahdollista, että myös omistaja on ESBL-kantaja (Ljungquist ym. 2016, Wedley ym. 2017, Grönthal ym. 2018).

Etenkin suuremmilla klinikoilla ja eläinsairaaloissa tartuntavaaraisille eläimille tulisi olla oma tutkimushuone, joka on erillään muista ja helposti desinfioitavissa. ESBL-positiiviseksi todettu potilas tulee pitää kosketuseristyksessä muista potilaista, ja tilat, joissa potilas on hoidon aikana ollut (esimerkiksi tutkimushuone, heräämö) tulee desinfioda huolellisesti käynnin jälkeen (Jalava ym. 2013, Evidensia 2017). Mikäli tartuntavaarallisille eläimille ei ole erillistä tutkimushuonetta, potilaan voi ottaa hoitoon esimerkiksi päivän viimeisenä, jolloin muiden eläinten altistus moniresistenteille bakteereille saadaan minimoitua – edellyttäen, että tilat

puhdistetaan ja desinfioidaan huolellisesti potilaan jälkeen, jottei seuraavan päivän potilaat altistu.

ESBL:n vastustuksessa myös mikrobilääkekuureihin tulee kiinnittää huomiota. Mikrobilääkkeiden käytön tulee olla perusteltua ja sen tulee perustua Eviran mikrobilääkkeiden käyttösuosituksiin sekä lainsäädäntöön. Etenkään pieneläimillä mikrobilääkkeet eivät ole aina ensisijainen vaihtoehto esimerkiksi iho- ja korvapotilaiden hoidossa. Mikrobilääkkeiden käytön on myös hyvä perustua herkkyysmäärittelyyn (Evira 2016b). Näin voidaan välttää turhien ja tehottomien mikrobilääkkeiden käyttö, mikä pahimmillaan voi johtaa resistenssin kehittymiseen (Tham ym. 2013). Hoidoissa käytetään ensisijaisesti kapeakirjoista taudinaiheuttajaan tehoavaa mikrobilääkettä (Evira 2016b). Laajakirjoisten mikrobilääkkeiden, kuten kefalosporiinien ja fluorokinolonien, käyttöä tulee harkita ja vähentää, sillä niiden käytön vähentämisen on todettu vähentävän myös ESBL-tapausten määrää (Hawkey 2011).

2.10 ESBL-tartuntojen hoito

Eläin voi olla ESBL:n kantaja ilman oireita, eikä varsinaisiin hoitotoimenpiteisiin tarvitse ryhtyä, jos oireita ei ilmaannu. ESBL-bakteerin aiheuttaessa infektion sitä voi kuitenkin olla vaikea hoitaa, sillä ESBL:ää tuottava bakteeri on usein vastustuskykyinen monille mikrobilääkkeille.

Mitään yksiselitteistä hoitosuositusta ESBL-tartunnoille ei ole. Mikrobilääkehoidon tulisi perustua herkkyysmäärittelyyn, etenkin kun kyseessä on monille mikrobilääkkeille vastustuskykyinen bakteeri. Ihmisillä toimivaksi mikrobilääkkeeksi ESBL-infektoiden hoidossa on todettu olevan beetalaktamaasi-inhibiittorin sekä laajakirjoisen penisilliinin yhdistelmä, kuten piperasilliini-tatsobaktaami (Gupta ym. 2003). Ihmisillä vakavien infektioiden hoidossa voidaan käyttää myös karbapeneemejä (Gupta ym. 2003), joiden käyttö on kuitenkin rajattu vain ihmisten vakavien infektioiden hoitoon, eikä niitä saa tällä hetkellä käyttää eläimillä Suomessa (VNa 1054/2014, 11§).

Koirilta ja kissoilta eristetyistä bakteereista tehdyssä *in vitro* -tutkimuksessa Japanissa (Shimizu ym. 2017) selvitettiin herkkyysmäärittelysten avulla, mitkä mikrobilääkkeet olisivat tehokkaita ekstraintestinaalisten ESBL-tartuntojen hoidossa. Tulosten perusteella kaikki (n=90) eristetyt

bakteerikannat olivat herkkiä meropeneemille ja amikasiinille. Bakteereista yli 90 % oli herkkiä muun muassa nitrofurantoiinille (96,7 %) ja piperasilliini-tatsobaktaamille (92,2%). Enemmistö kannoista oli herkkiä myös kloramfenikolille (80,0%), trimetopriimi-sulfonamidille (64,4 %), amoksisilliini-klavulaanihapolle (63,3 %) ja tetrasykliinille (52,2 %). Vain harva kannoista oli herkkiä enrofloksasiinille (10,0 %). Tutkimuksen perusteella sopivia mikrobilääkevaihtoehtoja ESBL-tartuntojen hoidossa olisivat siis etenkin amikasiini ja piperasilliini-tatsobaktaami sekä nitrofurantoiini (käytännössä vain virtsatieinfektioiden hoidossa), sillä näiden teho ESBL-bakteereja vastaan on lähinnä eläimillä kiellettyjen karbapeneemien tehoa (Shimizu ym. 2017).

Vaikka fluorokinolonit mielletäänkin tehokkaaksi hoitovaihtoehdoksi silloin, kun muilla mikrobilääkkeillä ei ole enää tehoa, Shimizun ym. (2017) tutkimuksen tulosten perusteella ESBL-tartuntojen hoidossa se on huono vaihtoehto, sillä ESBL-geeniä kantava plasmidi sisältää usein resistenttigeenin myös esimerkiksi fluorokinoloneja vastaan (katsauksessa Gupta ym. 2003, Coque ym. 2008, Huber ym. 2013). Myöskään amoksisilliini-klavulaanihappoa ei suositella käytettävän, sillä vaikka *in vitro* -tutkimuksissa monet ESBL-bakteerit ovat herkkiä, kliininen teho voi olla huono (Merja Rantala, henkilökohtainen tiedonanto).

ESBL-kolonisaation säilymisestä ei ole varmaa tietoa, mutta siitä on kuitenkin ilmeisesti mahdollisuus päästä eroon. Kolonisaatio voi kuitenkin jatkua vuosia, vaikka seulontanäytteet olisivatkin välillä negatiivisia (Jalava ym. 2013). Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin (2016) mukaan ESBL-*E. coli* -kantajuustiedon poistamista voi harkita ihmisiltä vuoden kuluttua positiiviseksi todentamisen jälkeen, vaikka erillistä negatiiviseksi todennettua seulontanäytettä ei olisi otettu. ESBL-*K. pneumoniae* -kantajuustiedon poistamista voidaan harkita myös vuoden kuluttua, mutta tiedon poistamiseen vaaditaan kolme negatiiviseksi todettua seulontanäytettä vähintään kolmen kuukauden ajalta.

3 TUTKIMUSOSIO

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää Eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen mikrobiologian laboratorion seulontanäytteistä vuosilta 2012-2017 ESBL:n yleisyyttä koirilla sekä ESBL-bakteerien mikrobilääkeherkkyyksiä. Tutkimuksessa selvitettiin myös mahdollisia riskitekijöitä ESBL-kantajuudelle. Hypoteesina oli, että mikrobilääkehoito sekä koiran

alkuperämaa (tuontikoirat) lisäävät riskiä moniresistenttien mikrobien, kuten ESBL:n kantajuudelle. Tutkimuksessa selvitettiin myös, onko ESBL:n yleisyys lisääntynyt seulontanäytteissä ajan myötä.

3.1 Aineisto ja menetelmät

3.1.1 Tutkimuspopulaatio

Tutkimuksen materiaalina käytettiin Eläinlääketieteellisen tiedekunnan kliinisen mikrobiologian laboratorion Provet Net -laboratorio-ohjelmasta (Finnish Net Solutions) saatuja ESBL-seulontanäytteiden ja niiden kiekkoherkkyysmääritysten tuloksia ja potilaiden esitietoja. Tulokset oli koottu Excel[®]-taulukkolaskentaohjelmaan (Microsoft[®]).

3.1.2 Tutkittavat mikrobilääkkeet

Tutkimuksessa oli käytössä seuraavat mikrobilääkkeet: pääpaneeliin kuuluivat ampisilliini, amoksisilliini-klavulaanihappo, sulfonamidi-trimetopriimi, enrofloksasiini, kefpodoksiimi ja gentamisiini sekä II-paneeliin kuuluivat amikasiini, meropeneemi, kloramfenikoli, tetrasykliini ja doksisykliini. Herkkyysmääritykset tehtiin CLSI:n (Clinical & Laboratory Standards Institute) ohjeiden mukaan (CLSI 2013a, CLSI 2013b).

Kontrollikantana tutkimuksessa oli *Escherichia coli* ATCC 25922.

Mikrobilääkeherkkyysien osuuksia määritettäessä laskettiin resistenssiprosentteja, jolloin osoittajassa on bakteerikannat, jotka on todettu ei-herkiksi tiettyä mikrobilääkettä kohtaan ja nimittäjässä on kaikki bakteerikannat, joille kyseinen herkkyys on määritetty.

3.1.3 Tilastolliset menetelmät

Esitiedoista tutkittiin potilaiden mikrobilääkitys- ja tuontitausta, ikä näytteenottohetkellä sekä sukupuoli. Jos esitiedoissa ei erikseen mainittu tuontitaustaa, koiran oletettiin olevan suomalainen. Iän analysointia varten koirat luokiteltiin neljään ikäryhmään näytteenottohetken iän perusteella (alle 4-vuotiaat, 4-7 vuotiaat, 8-10 vuotiaat ja yli 11-vuotiaat).

Näiden esitetietojen pohjalta analysoitiin mahdolliset riskitekijät ESBL-kantajuudelle, erityisesti mikrobilääkityksen ja matkustushistorian vaikutukset ESBL-seulontanäytteen tuloksiin sekä onko koiran iällä tai sukupuolella vaikutusta ESBL-positiivisuuteen. Analysoinnissa huomioitiin myös, onko ESBL:n yleisyys lisääntynyt vuosien kuluessa.

Tietojen analysointiin käytettiin WHONET- (versio 2018, WHO Collaboratin Centre for Surveillace of Antimicrobial Resistance) ja SPSS-ohjelmia (versio 25.0, IBM Corporation Statistics for Windows). WHONET:in avulla määritettiin seulontanäytteiden mikrobilääkeherkkyydet ja niille 95 %:n luottamusvälit, käyttäen CLSI:n asettamia herkkyyssrajoja (CLSI 2013a, CLSI 2013b). Tuloksista määritettiin myös moniresistenttien kantojen määrää. Tässä tutkimuksessa bakteeri luettiin moniresistentiksi (MDR, *multidrug resistant*), jos se on resistentti mikrobilääkkeille vähintään kolmessa eri mikrobilääkeluokassa (Magiorakos ym. 2012).

Riskitekijät analysoitiin yksittäin. SPSS-ohjelmalla kaikille dikotomisille muuttujille (kyllä/ei, kuten mikrobilääkitys) tehtiin ristiintaulukointi, logistinen regressio sekä Fisherin eksakti testi, joiden perusteella riskitekijöille saatiin ristitulosuhteet (OR, odds ratio) ja p-arvot. Tässä tutkimuksessa tilastollisen merkitsevyyden raja oli $p < 0,05$. Jatkuvat muuttujat (ikä) analysoitiin T-testin avulla.

3.2 Tulokset

3.2.1 Aineiston kuvailu

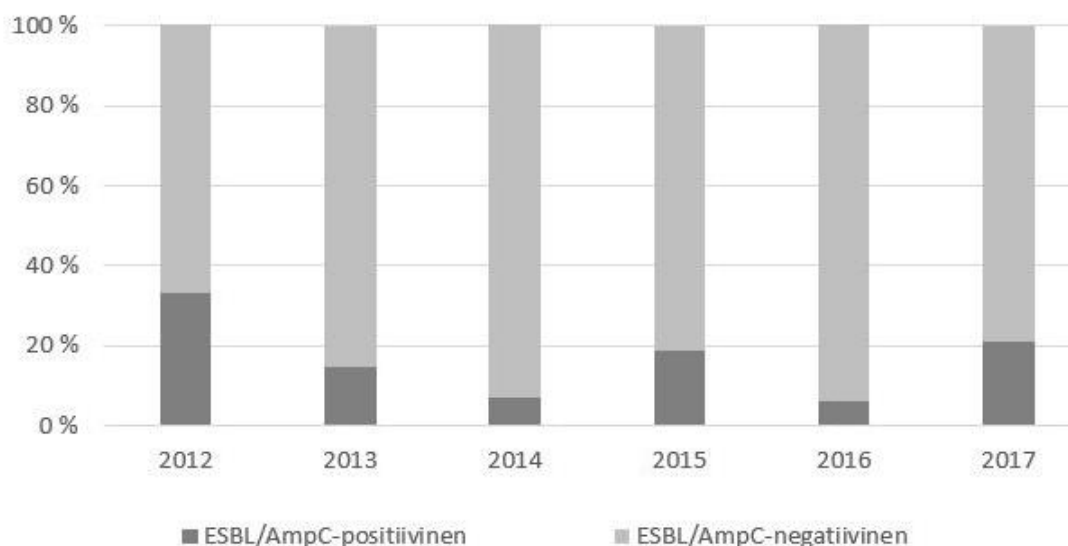
Seulontanäytteitä oli yhteensä 523:sta koirasta. Tutkimuksessa oli mukana tasaisesti naaraita (n=140), steriloituja naaraita (n=131), uroksia (n=132) ja kastroituja uroksia (n=92). Sukupuolitieto puuttui 28:ltä koiralta. Koirien ikäjakauma seulontanäytteiden ottohetkellä oli alle vuoden ikäisistä 14-vuotiaisiin. Ikäkeskiarvo oli 4,56 ja mediaani 4. Ikätieto puuttui 300:ltä koiralta, mikä on merkittävää. Tutkimuksessa oli mukana 278 rotukoira, jotka edustivat 96 eri koirarotua. Sekarotuisia koiria oli 216, ja rotutieto puuttui 29:ltä koiralta. Ilmoitettua tuontitai matkustustaustaa oli 105 koiralla. Yleisimmät maat olivat Venäjä (n=60), Viro (n=12), Romania (n=7) ja Espanja (n=6). Mikäli tuontitautaa ei oltu erikseen esitiedoissa mainittu,

koira oletettiin suomalaiseksi. 104 koiraa oli mikrobilääkityksellä näytteenottohetkellä ja 46:ltä koiralta kyseinen tieto puuttui.

Seulontanäytteiden perusteella ESBL/AmpC-negatiivisia koiria oli 430 (82,2%) ja ESBL/AmpC-positiivisia koiria oli yhteensä 93 (17,8%), joista 88:lla lajina oli *Escherichia coli* ja kahdella *Klebsiella pneumoniae*, sekä kahdella *Proteus mirabilis*. Yhdeltä koiralta löytyi sekä *E. coli* että *K. pneumoniae*. Bakterilöydöksistä 83 tuotti ESBL-entsyymiä ja 10 tuotti AmpC-entsyymiä. Kaikki AmpC:tä tuottavat bakteerit olivat lajiltaan *E. coli*.

3.2.2 ESBL:n esiintyminen seulontanäytteissä

ESBL-positiivisuuden yleistymistä vuosien kuluessa arvioitaessa havaittiin, että seulontanäytteitä on viime vuosina otettu huomattavasti paljon enemmän kuin aikaisempina vuosina: esimerkiksi vuonna 2012 näytteitä otettiin 18 kappaletta, kun taas vuonna 2015 53 kappaletta ja vuonna 2017 jo 283 kappaletta. Suuremmilla näytemäärillä on löydetty enemmän ESBL-positiivisia, mutta kun positiivisten lukumäärän suhteuttaa näytemääriin, ei yleistymistä vuosien kuluessa havaita. Prosentuaalisesti tarkasteltuna näyttää siltä, että ESBL-positiivisten näytteiden osuus seulontanäytteissä olisi laskussa vuosien kuluessa (Kuva 6).



Kuva 6. ESBL/AmpC-positiivisten ja -negatiivisten näytteiden osuudet seulontanäytteistä eri vuosina.

3.2.3 Mikrobilääkeherkkyydet

Escherichia coli:n mikrobilääkeherkkyydet, resistenssiprosentit ja niiden 95 % luottamusvälit tutkituille mikrobilääkkeille on esitetty alla olevassa taulukossa (Taulukko 4, CLSI 2013a, CLSI 2013b). *Klebsiella pneumoniae*:n osalta taulukointia ei ollut tilastollisesti mielekäästä tehdä, koska kantoja oli seulontanäytteissä niin vähän (n=3).

Taulukko 4. ESBL/AmpC *Escherichia coli*:n herkkyyismääritysten tulokset.

Mikrobilääke	Lyhenne	Herkkyyssraja (mm)	Lukumäärä	% R	% S	95% CI (%R)
Amoksisilliini- klavulaanihappo	AMC	S ≥ 18	92	48,2	51,8	37,8-57,0
Amikasiini	AMK	S ≥ 17	86	0,0	100	0,0-4,7
Ampisilliini	AMP	S ≥ 17	92	100	0,0	95,8-100
Kloramfenikoli	CHL	S ≥ 18	66	18,8	81,2	10,5-30,9
Kefpodoksiimi	CPD	S ≥ 21	92	100,0	0,0	95,8-100
Doksisykliini	DOX	S ≥ 14	78	75,0	25,0	42,8-93,3
Enrofloksoasiini	ENR	S ≥ 23	89	64,5	35,5	54,6-73,3
Gentamisiini	GEN	S ≥ 15	91	23,9	76,1	16,5-33,2
Meropeneemi	MEM	S ≥ 23	86	1,0	99,0	0,1-6,3
Trimetopriimi- sulfonamidi	SXT	S ≥ 16	92	49,1	50,9	39,5-58,8
Tetrasykliini	TCY	S ≥ 15	68	35,2	64,8	24,5-47,5

Kaikki *E. coli* -kannat (n=88) olivat vastustuskykyisiä ampisilliinia ja kefpodoksiimia (kolmannen polven kefalosporiini) vastaan täyttäen ESBL-määritelmän kriteerin.

E. coli:n osalta moniresistenttejä kantoja oli 50,0% (n=44) näytteistä. Yleisimmin kannat olivat vastustuskykyisiä beetalaktaameja (kuten ampisilliinia, amoksisilliini-klavulaanihappoa ja

kolmannen polven kefalosporiineja), fluorokinoloneja, trimetopriimi-sulfonamideja ja tetrasykliinejä vastaan. Osa kannoista (n=5) oli myös erittäin resistenttejä mikrobilääkkeitä vastaan jopa kuudessa eri mikrobilääkekategoriassa, ollen edellisten lisäksi vastustuskykyisiä muun muassa gentamisiinia (aminoglykosidi) ja kloramfenikolia vastaan.

Ne *E. coli* -kannat, jotka eivät varsinaisesti olleet moniresistenttejä, olivat ampisilliinin ja kefpodoksiimin lisäksi vastustuskykyisiä amoksisilliini-klavulaanihappoa (n=19), enrofloksasiinia (n=15), trimetopriimi-sulfonamidia (n=4) ja tetrasykliiniä (n=1) vastaan.

K. pneumoniae:n osalta kaikki kannat (n=3) olivat moniresistenttejä, ollen vastustuskykyisiä amoksisilliini-klavulaanihapolle, ampisilliinille, kefpodoksiimille, doksi- ja tetrasykliinille sekä trimetopriimi-sulfonamidille. Yksi kannoista oli edellisten lisäksi erittäin resistentti ollen vastustuskykyinen myös kloramfenikolille, enrofloksasiinille ja gentamisiinille. Kaikki kannat olivat herkkiä amikasiinille ja meropeneemille.

3.2.4 Riskitekijät

Esitietojen perusteella riskitekijöinä analysointiin tuontitaustaa, mikrobilääkitystä, ikää ja sukupuolta. Tulokset on koottu alla olevaan Taulukkoon 5. Se, että potilas oli mikrobilääkehoidolla näytteenottohetkellä, osoittautui suojelevaksi tekijäksi ESBL/AmpC-positiivisuudelle (p=0,014, OR 0,416). Tuontitaustan osalta ristitulosuhteeksi saatiin 1,608, mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkittävä, vaikkakin lähellä sitä (p=0,073). Ikä ja sukupuoli eivät osoittautuneet riskitekijöiksi ESBL/AmpC-positiivisuudelle.

Taulukko 5. Eri muuttujien p-arvot, ristitulosuhteet ja 95% luottamusvälit ESBL/AmpC-positiivisuudelle.

Parametri		ESBL/AmpC-pos		ESBL/AmpC-neg		p-arvo	OR	95% CI
		n	%	n	%			
Tuontitausta	Kyllä	25	23,8	80	76,2	0,073	1,608	0,957-2,702
	Ei	68	16,3	350	83,7	-	1	-
Mikrobilääkitys	Kyllä	10	9,6	94	90,4	0,014	0,416	0,207-0,836
	Ei	76	20,4	297	79,6	-	1	-
Ikä	<4v	17	15,5	93	84,5	0,285	1	-
	4-7v	12	19,0	51	81,0	0,543	1,287	0,570-2,905
	8-10v	1	3,1	31	96,9	0,098	0,176	0,023-1,381
	>11v	2	11,1	16	88,9	0,633	0,684	0,144-3,248
Sukupuoli	uros	38	17,0	186	83,0	0,827	0,949	0,594-1,516
	naaras	48	17,7	223	82,3	-	1	-

4 POHDINTA

Tutkimuksen lähdepopulaationa oli kaiken rotuisia, ikäisiä ja taustaisia koiria, joiden ulosteesta on otettu seulontanäytteitä. Seulontanäytteitä otettiin kuitenkin ensisijaisesti riskipotilailta, kuten tuontikoirilta ja paljon mikrobilääkkeitä saaneilta, joten tutkimuksen tuloksia ei voida suoraan yleistää suomalaiseen, terveeseen koirapopulaatioon.

Aikaisemmissa tutkimuksissa ESBL:lle on löydetty useita riskitekijöitä, kuten mikrobilääkitys, ulkomaanmatkailu (eläimien osalta etenkin tuontikoirat), sairaalaympäristö sekä raakaruokinta (Gibson ym. 2011a, Tham ym. 2013, Nilsson ym. 2015, Baede ym. 2017, Helsingin yliopisto 2017, Wedley ym. 2017). Tässä tutkimuksessa esitietoja oli signalmentin (ikä, rotu, sukupuoli) lisäksi vain tuontitaustasta ja siitä, onko potilas ollut mikrobilääkityksellä näytteenottohetkellä, joten mahdollisista riskitekijöistä analysoitiin mikrobilääkitystä, tuontitaustaa, ikää ja sukupuolta.

Ristiintaulukoinnissa tuontitaustan ristitulosuhteeksi (OR) saatiin 1,608, mikä antaa viitteitä siitä, että tuontikoirilla olisi noin 1,6-kertainen paine olla ESBL-positiivisia matkustamattomiin, suomalaisiin koiriin verrattuna. Tulos on lähellä tilastollista merkitsevyyttä ($p=0,073$), ja vain yksikin ESBL-positiivinen tuontikoira olisi muuttanut tuloksen tilastollisesti merkitseväksi. Lisäksi on mahdollista, että esitiedoissa on puutteita, eikä kaikkia tuonti- tai matkustustaustan omaavia koiria ole luokiteltu tuontikoiriksi, jolloin koirat on oletettu suomalaisiksi, mikä vääristää tuloksia.

Mikrobilääkityksen osalta ristitulosuhteeksi (OR) saatiin 0,416, mikä tarkoittaa sitä, että tulosten valossa mikrobilääkitys olisi jopa ESBL-kantajuudelta suojeleva tekijä, eli mikrobilääkitys vähentäisi mahdollisuutta, että potilas on ESBL-positiivinen. Tulos on myös tilastollisesti merkittävä ($p=0,014$). Esitiedoissa kuitenkin kysyttiin, onko potilas mikrobilääkityksellä seulontanäytteenoton aikana, eikä niinkään, että onko potilas syönyt mikrobilääkekuureja aikaisemmin, kuten useimmissa riskitekijätutkimuksissa. Tästä johtuen on loogisesti järjeenkäypää, että tässä tutkimuksessa mikrobilääkitys muodostui ESBL-kantajuudelta suojelevaksi tekijäksi: jos potilas on näytteenoton aikana ollut sellaisella mikrobilääkekuurilla, jolle mahdollinen ESBL-bakteeri on vielä ollut herkkä, bakteeri on mikrobilääkkeen vaikutuksesta heikentynyt tai jopa kuollut, eikä sitä ole siten viljelyissä saatu esille. Samoin kuin tuontitausta-muuttujassa, tuloksia voi myös osaltaan vääristää esitietojen puutteellisuus: mikrobilääkityksen osalta 46/523 koirasta ei tiedetty, oliko se näytteenottohetkellä mikrobilääkityksellä vai ei, jolloin oletettiin, että potilas ei ollut mikrobilääkityksellä.

Iän voisi ajatella olevan riskitekijä siinä suhteessa, että mitä vanhemmaksi koira elää, sitä enemmän sillä on aikaa altistua ESBL-bakteerille. Ympäristökontaktin lisäksi vanhemmilla koirilla voi olla taustalla esimerkiksi enemmän eläinlääkärikäyntejä ja mikrobilääkekuureja kuin nuoremmilla koirilla. Prosentuaalisesti eniten ESBL/AmpC-positiivisia koiria oli 4-7 vuoden ikäisissä, mutta tulos ei kuitenkaan ole tilastollisesti merkittävä ($p=0,543$; OR 1,287).

Myöskään koiran sukupuolen ei todettu olevan riskitekijä ESBL-kantajuudelle. Kuitenkin narttukoirilla ESBL-bakteerien aiheuttamat tulehdukset voivat olla yleisempiä: esimerkiksi narttukoirilla virtsatietulehdukset voivat olla ovat hieman yleisempiä kuin uroskoirilla, johtuen

narttukoirien anatomisesta rakenteesta (lyhyempi virtsaputki ja virtsaputki lähempänä peräaukkoa) (katsauksessa Thompson ym. 2011).

Seulontanäytteiden lukumäärien kasvu vuosien 2012 ja 2017 välillä antaa viitteitä siitä, että tietoisuus moniresistenteistä bakteereista ja niille altistavista riskitekijöistä on lisääntynyt, ja myös lemmikkejä halutaan seuloa näiden bakteerien varalta. Niin kutsuttuja rescuekoiria tuodaan yhä enemmän Suomeen maista, joissa moniresistentit bakteerit ovat yleisempiä puutteellisen hygienian, runsaan mikrobilääkkeiden käytön ja suuremman tautipaineen takia. Matkailun lisääntyessä myös koirat matkustavat omistajien mukana maihin, joissa moniresistenttejä bakteereja saattaa olla endeemisenä. Seulontanäytteiden otto onkin jo lähes rutiinitoimenpide, etenkin jos potilas on saanut useita mikrobilääkekuureja, ei vastaa nykyiseen mikrobilääkehoitoon, omaa tuontitaustaa tai tulee Suomeen oireilevana ulkomailta.

Yhtenä hypoteesina oli, että seulontanäytteissä havaittaisiin ESBL-positiivisuuden yleistymistä vuosien kuluessa. ESBL-positiivisten seulontanäytteiden prosentuaalinen määrä ei kuitenkaan näyttäisi olevan kasvussa (tätä ei kuitenkaan testattu tilastollisesti). Tähän varmasti vaikuttaa se, että seulontanäytteiden lukumäärä esimerkiksi vuonna 2017 on paljon suurempi kuin aikaisempina vuosina. Tietoisuuden lisääntyessä seulontanäytteiden otto on yleistynyt ja suurempiin näytemääriin mahtuu myös paljon enemmän negatiivisia tuloksia, mikä pienentää ESBL-positiivisten prosentuaalista osuutta näytteistä. Vuonna 2012 näytteitä otettiin ehkä enemmän jo varmoista tapauksista lisävarmistuksena, koska kolmasosa näytteistä (33,3%) todettiin ESBL-positiivisiksi. Mielenkiintoista olisikin tietää, olisiko ESBL-positiivisia vuonna 2012 läheskään yhtä paljon kuin vuonna 2017, jos vuosina olisi otettu yhtä paljon seulontanäytteitä.

Tutkimuksessa eniten tutkittuja mikrobilääkkeitä olivat ampisilliini, amoksisilliini-klavulaanihappo, trimetopriimi-sulfonamidi, kefpodoksiimi, enrofloksasiini ja gentamisiini. Hieman vähemmän mikrobilääkkeistä tutkittiin amikasiinia, meropenemia, doksisykliiniä, tetrasykliiniä ja kloramfenikolia (kaikki II-paneelin mikrobilääkkeitä), mutta niiden herkkyyksiä alettiin tutkiakin enemmän vasta vuodesta 2016 eteenpäin (Thomas Grönthal, henkilökohtainen tiedonanto).

Seulontanäytteistä löytyneet *E. coli* ja *K. pneumoniae* olivat täysin resistenttejä ampisilliinille ja kefpodoksiimille täyttäen ESBL-bakteerin kriteerin. Osa bakteerikannoista oli myös resistenttejä fluorokinoloneille, aminoglykosideille, trimetopriimi-sulfonamidille ja tetrasykliinille. Tätä havaintoa tukeekin tieto siitä, että ESBL-geenin sisältävä plasmidi kantaa usein myös muita resistenttigeenejä (katsauksessa Gupta ym. 2003, Coque ym. 2008, Huber ym. 2013). Tämän takia *Enterobacteriaceae*-heimon bakteerien kohdalla herkkyysmääritykset ovat erityisen tärkeitä, sillä koskaan ei voi tietää, mille kaikille mikrobilääkkeille kyseinen bakteeri on mahdollisesti vastustuskykyinen.

Herkkyysmääritysten tulosten mukaan (taulukko 4) ESBL/AmpC-ominaisuuden omaava *E. coli* oli usein herkkä aminoglykosideille, kloramfenikolille, tetrasykliinille ja amoksisilliini-klavulaanilahapille. *E. coli* oli myös lähes täydellisen herkkä karbapeneemille, mutta karbapeneemien käyttö eläimillä on kielletty Valtioneuvoston asetuksen 1054/2014 11§:n mukaan. Tulokset vastaavat aikaisempia tutkimustuloksia (Shimizu ym. 2017), joissa toimivaksi mikrobilääkitykseksi ESBL:ää tuottavaa bakteeria vastaan (*in vitro*) todettiin juurikin amikasiini, kloramfenikoli ja beetalaktaami-beetalaktamaasi-inhibiittori.

ESBL/AmpC-bakteerina *K. pneumoniae* on näiden tutkimustulosten mukaan huomattavasti harvinaisempi kuin *E. coli*, sillä vain 3,2 %:sta (n=3) ESBL-positiivisista seulontanäytteistä löytyi *K. pneumoniae*. *K. pneumoniae* -kannat olivat myös resistentimpiä useammalle eri mikrobilääkkeelle. Kaikki kannat olivat myös moniresistenttejä, kun taas *E. coli*:n osalta vain puolet (n=44) kannoista oli moniresistenttejä. Pieni näytemäärä vaikuttaa kuitenkin myös herkkyysmääritysten tuloksiin, joista ei voi tehdä luotettavaa tilastollista analyysia.

Moniresistenttien bakteerin esiintyvyyttä sekä eläin- että ihmispuolella on tärkeää tutkia, sillä niiden yleistyminen aiheuttaa uhkia sekä eläin- että ihmiskunnalle. Arvioiden mukaan tulevaisuudessa ihmisiä kuolee enemmän moniresistenttien bakteerien aiheuttamiin infektioihin kuin syöpäsairauksiin (O'Neill 2016). Mikrobilääkkeitä tulee käyttää vain silloin, kun niiden käyttö on perusteltua, ja mikrobilääkkeen valinnassa tulee huomioida sen teho todennäköisimpään taudinaiheuttajaan. Potilaita hoidettaessa myös hyvä hygienia on ensisijaisen tärkeää, jotta voidaan estää vastustuskykyisten bakteerien syntyminen ja leviäminen.

Mikrobilääkeresistenssin aiheuttama valistustyö ja muuntuneet hoitokäytännöt ovat jo onneksi tuottaneet tulosta eläinpuolella: Fimean raportin mukaan eläinten tablettimuotoisten mikrobilääkkeiden myynti on vähentynyt vuonna 2017 lähes 40 % vuosiin 2010-2014 verrattuna (EMA 2018, Ruokavirasto 2018b). Myös tuotantoeläimille tarkoitettujen mikrobilääkkeiden käyttö on Suomessa vähentynyt 15 % vuosien 2011 ja 2016 välillä (EMA 2018, Fimea 2018). Koska raportit kattavat kuitenkin vain eläimille rekisteröidyt valmisteet ja eläimillä voidaan käyttää *off-label* myös ihmisille rekisteröityjä mikrobilääkkeitä, pienentyneet myyntiluvut eläinlääkkeissä eivät välttämättä kerro koko totuutta mikrobilääkkeiden käytön vähenemisestä. Voidaan kuitenkin uskoa, että valistustyöllä ja hoitokäytänteiden muuttumisella suuntaan, jossa mikrobilääkkeitä ei käytetä ensisijaisena hoitona jokaiseen vaivaan, on ollut vaikutusta mikrobilääkkeiden myyntilukujen pienenemiseen (Ruokavirasto 2018b).

Mikrobilääkkeiden käytön lisäksi nykymaailmassa resistenssitilanteeseen vaikuttavat paljon myös tuontikoirat, joita tuodaan Suomeen paljon maista, joissa moniresistenttejä bakteereja voi olla jopa endeemisenä. Moniresistentit bakteerit voivat siirtyä koirista toisiin ja jopa ihmisiin joko suorassa kontaktissa tai välillisesti esimerkiksi esineiden tai ruoan välityksellä. Rescuekoiria tuovat yhdistykset testaavat osan koirista muun muassa ESBL:n varalta ennen koirien Suomeen tuomista, mutta positiivinen tulos ei kuitenkaan estä koiran tuomista Suomeen. Moniresistenttien bakteerien lisäksi tuontikoirissa voi olla myös monia muita vaarallisia tauteja, kuten esimerkiksi raivotautia, penikkatautia, parvovirusripulua, leishmaniaa ja leptospiroosia (Ruokavirasto 2018f), joista osa uhkaa eläinten lisäksi myös ihmisiä. Tuontikoirien aiheuttamia riskejä lisäävät laittomat tuonnit, joten tuontikoiran kohdalla tuleekin aina varmistua siitä, että eläin on tuotu maahan laillisesti, vastuullisesti ja Eviran antamien ohjeiden mukaisesti (Ruokavirasto 2018f). Laillisesti tehty tuonti ei kuitenkaan ole tae koiran taudittomuudesta - etenkin moniresistenttien bakteerien osalta.

Kaikkien tulee kantaa vastuu taistelussa mikrobilääkkeille vastustuskykyisiä bakteereja vastaan – niin lääketieteen asiantuntijoiden ja mikrobilääkkeitä määräävien lääkäreiden kuin eläinten omistajienkin. Eläinten omistajille tulee kertoa moniresistenttien bakteerien aiheuttamista riskeistä sekä siitä, minkä takia mikrobilääkehoito ei ole enää välttämättä se ensisijainen hoitovaihtoehto kaikissa tulehdustiloissa. Omistaja tulee myös motivoida hoitamaan eläintänsä ilman mikrobilääkkeitä silloin, kun se on mahdollista, vaikka se omistajan näkökulmasta olisikin työläämpää, kuin pelkän tabletin anto.

5 KIRJALLISUUSLUETTELO

Baede VO, Broens EM, Spaninks MP, Timmerman AJ, Graveland H, Wagenaar JA, Duim B, Hordijk J. Raw pet food as a risk factor for shedding of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in household cats. Plos one 2017; 2-11

Barth Reller L, Weinstein M, Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. Clin Infect Dis 2009; 49(11): 1749-1755.

Bébéar CM, Pereyre S. Mechanisms of drug resistance in *Mycoplasma pneumoniae*. Curr Drug Targets Infect Disord 2005; 5(3): 263-271

Belas A, Salazar AS, Gama LTD, Couto N, Pomba C. Risk factors for faecal colonization with *Escherichia coli* producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in dogs. Veterinary Record 2014; 175: 202

bioMérieux SA. Etest® Antimicrobial Susceptibility Testing, valmistajan ohje 9302553C, 2012.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2013a). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals: Approved Standard VET01-A4. Wayne, PA: CSLI; 2013.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2013b). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals: Second Informational Supplement VET01-S2. Wayne, PA: CLSI; 2013.

Conceição RA, Ludovico MS, Andrade CGTJ, Yano T. Human sepsis-associated *Escherichia coli* (SEPEC) is able to adhere to and invade kidney epithelial cells in culture. Braz J Med Biol Res 2012; 45(5): 417-424.

Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. Euro Surveill 2008; vol 13, issue 47, 1-11.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (2016a). Bakteerien antibioottiherkkyyden tutkiminen kiekkoherkkyyksen menetelmällä, menetelmäohje 3484/10, 2016.

https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/vertailulaboratoriotoiminta/mikro_bilaakeherkkyyden-testaaminen/evira_3484_bakteerien_antib.pdf

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (2016b). Mikrobilääkkeiden käyttösuositukset eläinten tärkeimpiin tulehdus- ja tartuntatauteihin, https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/viljelijat/elainten-pito/elainten-laakitseminen/mikrobilaakkeiden_kayttosuositukset_fi_2.pdf , 2016.

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (2018a). Koirien ja kissojen eläinperäinen raakaruoka, ohje 12834/1, 2018. <https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/tietoa-meista/asiointi/oppaat-ja-lomakkeet/yritykset/rehuala/ohjeet/koirien-ja-kissojen-raakaruoka-128342.pdf>

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira (2018b). Tuotantoeläimille hyväksytyt lääkevalmisteet. https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/hallittu_laakekekaytto/laakeluettelot/tuotantoelaimet_valm2.pdf

European Medicines Agency EMA, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2016, Trends from 2010 to 2016. https://www.ema.europa.eu/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-30-european-countries-2016-trends-2010-2016-eighth-esvac_en.pdf, 15.10.2018

European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2017. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm, 2018.

Eveillard M, Schmit J-L. Antimicrobial Use Prior to the Acquisition of Multiresistant Bacteria. Infection Control and Hospital Epidemiology 2002; 23(3); 155-158.

Evidensia Eläinlääkäripalvelut Oy. Hygieniaoheistus 2017, 2.p. <https://www.evidensia.fi/wp-content/uploads/2018/01/Hygieniaoheistus-Evidensia-2017-web.pdf>

Fimea Lääkealan turvallisuus- ja kehittämiskeskus. Tuotantoeläinten mikrobilääkkeiden kulutus on Suomessa vähäisempää kuin monessa muussa EU-maassa, <https://www.fimea.fi/-/tuotantoelainten-mikrobilaakkeiden-kulutus-on-suomessa-vahaisempaa-kuin-monessa-muussa-eu-maassa>, päivitetty 15.10.2018

FINRES-Vet 2013-2015, Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents, Finnish Food Safety Authority Evira, Helsinki, Finland. ISSN 1797-299X, ISBN 978-952-225-165-7 (pdf)

Gibson JS, Morton JM, Cobbold RN, Filippich LJ, Trott DJ. Risk factors for dogs becoming rectal carriers of multidrug-resistant *Escherichia coli* during hospitalization. Epidemiol Infect. 2011a; 139: 1511-1521.

Gibson JS, Morton JM, Cobbold RN, Filippich LJ, Trott DJ. Risk factors for multidrug-resistant *Escherichia coli* rectal colonization of dogs on admission to a veterinary hospital. Epidemiol Infect 2011b; 139: 197-205.

Griffiths E. Iron and bacterial virulence – a brief overview. Biol Metals 1991; 4: 7-13

Grönthal T, Österblad M, Eklund M, Jalava J, Nykäsenoja S, Pekkanen K, Rantala M. Sharing more than friendship – transmission of NDM-5 ST167 and CTX-M-9 ST69 *Escherichia coli* between dogs and humans in a family, Finland, 2015. Euro Surveill 2018; 23(27), <https://eurorveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.27.1700497>

Gupta A, Ampofo K, Rubenstein D, Saiman L. Extended Spectrum β Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* Infections: A Review of the Literature. J Perinatol 2003; 23: 439-443.

Hawkey PM. The Control of ESBL-producing bacteria. Teoksessa: Gould IM, van derMeer JWM (toim.) Antibiotic Policies. 1.p. Springer Science+Business Media, London 2011: 91-104.

Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiiri HUS. ESBL-torjuntaohjeita terveystieteiden vuodeosastoille ja pitkäaikaishoitolaitoksiin. Hoito-ohje, 20.12.2016. http://www.hus.fi/ammattilaiselle/hoito-ohjeet/mobiiliyksikon_ohjeet/Documents/ESBL%20torjuntatoimet.pdf

Helsingin yliopisto. Moniresistentit bakteerit ovat tuontikoirilla huolestuttavan yleisiä, 17.11.2017. <https://www.helsinki.fi/fi/uutiset/terveys/moniresistentit-bakteerit-ovat-tuontikoirilla-huolestuttavan-yleisia>

Huber H, Zweifel C, Wittenbrink MM, Stephan R. ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. Vet Microbiol 2013, 162:992-996.

Jacoby GA. AmpC β -Lactamases. Clin Microbiol Rev 2009; 1:161-182.

Jalava J, Rintala E, Lyytikäinen O. ESBL-entsyymejä tuottavien enterobakteerien torjunta on syytä suunnitella uudella tavalla. Suom Laakaril 2013; 18:1329-1334.

Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable Resistance to Cefotaxime, Cefoxitin, Cefamandole and Cefuroxime in Clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11: 315-17

Ljungquist O, Ljungquist D, Myrenås M, Ryden C, Finn M, Bengtsson B. Evidence of household transfer of ESBL-/pAmpC-producing Enterobacteriaceae between humans and dogs – a pilot study. *Infect Ecol Epidemiol* 2016, 6:31514

Lääketietokeskus. Pharmaca Fennica Veterinaria, St Michel Print Oy, Mikkeli 2018: 27-37, 383-386, 439-444.

Maa- ja metsätalousministeriön asetus 1010/2013 eläintautien ilmoittamisesta ja mikrobikantojen toimittamisesta.

<https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2013/20131010#Pidp446299504>

Maa- ja metsätalousministeriön asetus 17/14 lääkkeiden käytöstä ja luovutuksesta eläinlääkinnässä.

http://mmm.fi/documents/1410837/1817140/Laakkeiden_luovutus_.pdf/a7ff23f1-83f0-4a3e-9bf5-51babbfc837a

Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(3); 268-281

Mann R, Mediati DG, Duggin IG, Harry EJ, Bottomley AL. Metabolic Adaptations of Uropathogenic *E. coli* in the Urinary Tract. *Front Cell Infect Microbiol* 2017; 7(241): 1-15

Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y. Novel Plasmid-Mediated β -lactamase from *Escherichia coli* that Inactivates Oxyimino-Cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1988; 32(8): 1243-1246

Mattila S, Ruotsalainen P, Ojala V, Tuononen T, Hiltunen T, Jalasvuori M. Conjugative ESBL plasmids differ in their potential to rescue susceptible bacteria via horizontal gene transfer in lethal antibiotic concentrations. *J Antibiot* 2017; 78; 805-808.

- Meyer E, Gastmeier P, Kola A, Schwab F. Pet animals and foreign travel are risk factors for colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Infection* 2012; 40: 685-7
- Moxley R. Enterobacteriaceae: *Escherichia*, teoksessa McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM (toim). *Veterinary Microbiology*. 3. p. John Wiley & Sons, Incorporated, Hoboken 2013a: 62-74.
- Moxley R. Family Enterobacteriaceae, teoksessa McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM (toim). *Veterinary Microbiology*. 3. p. John Wiley & Sons, Incorporated, Hoboken 2013b: 53-61.
- Männistö PT, Tuominen RK. Soluseinämiä heikentävät bakteerilääkkeet. Teoksessa: Koulu M, Mervaala E (toim). *Farmakologia ja toksikologia*. 9.p. Bookwell Oy, Porvoo 2017: 877-897.
- Nilsson O. Hygiene quality and presence of ESBL-producing *Escherichia coli* in raw food diets for dogs. *Infect Ecol Epidemiol* 2015, 5: 28758
- O'Neill J. Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. The review on antimicrobial resistance, 2016. https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
- Palzkill T. Metallo- β -lactamase structure and function. *Ann N Y Acad Sci* 2013; 1277: 91-104.
- Pomba C, Rantala M, Greko C, Baptiste KE, Catry B, van Duinkerken E, Mateus A, Moreno MA, Pyörälä S, Ruzauskas M, Sanders P, Teale C, Threlfall EJ, Kunsagi Z, Torren-Edo J, Jukes H, Törneke K. Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72:957-968.
- Prescott JF. Beta-lactam Antibiotics: Beta-lactamase Inhibitors, Carbapenems, and Monobactams, teoksessa Giguere S, Prescott JF, Dowling PM (toim). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 5. p. Wiley Blackwell, Malaysia 2013a: 175-187.
- Prescott JF. Beta-lactam Antibiotics: Cephalosporins, teoksessa Giguere S, Prescott JF, Dowling PM (toim). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 5. p. Wiley Blackwell, Malaysia 2013b: 153-173.

Prescott JF. Beta-lactam Antibiotics: Penam Penicillins, teoksessa Giguere S, Prescott JF, Dowling PM (toim). Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 5. p. Wiley Blackwell, Malaysia 2013c: 135-152.

Päivärinta M, Pohjola L, Fredriksson-Ahomaa M, Heikinheimo A. Low occurrence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Finnish food-producing animals. Zoonoses Public Hlth 2016: 63; 624-631.

Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FitzPatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ. Bacterial genetics, mechanisms of genetic variation and gene databases, teoksessa Veterinary Microbiology and Microbial Disease, 2011a, 2. p. Wiley-Blackwell, Singapore. s. 129-142

Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, FitzPatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ. Enterobacteriaceae, teoksessa Veterinary Microbiology and Microbial Disease, 2011b, 2. p. Wiley-Blackwell, Singapore. s. 263-286

Rawat D, Nair D. Extended-spectrum β -lactamases in Gram Negative Bacteria. J Glob Infect Dis 2010: 2(3); 263-274.

Rescueyhdistys Kulkurit ry. Tiedote 24.11.2017: Ajankohtaista multiresistenteistä bakteereista. <https://kulkurit.fi/tiedote-ajankohtaista-multiresistenteista-bakteereista/>, päivitetty 6.3.2018.

Rice LB. Mechanisms of Resistance and Clinical Relevance of Resistance to β -lactams, Glycopeptides, and Fluoroquinolones. Mayo Clin Proc 2012; 87(2): 198-208.

Rita H, Virtala AM. Termien odds ja odds ratio tulkinnasta: “Veren alhainen immunoglobuliini G -pitoisuus kaksinkertaistaa vasikoiden keuhkokuumeepaineen”. Suomen Eläinlääkärilehti 2013; 199(2): 67-75.

Rubin JE, Pitout JDD. Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing Enterobacteriaceae in companion animals. Vet Microbiol 2014, 170: 10-18

Ruokavirasto (2018a). ESBL-, AmpC- ja karbapenemaasituoton tutkiminen kiekkoherkkyysmenetelmillä, menetelmäohje 3567/1, 2018.

https://www.ruokavirasto.fi/globalassets/laboratoriopalvelut/vertailulaboratoriotoiminta/ohjeita-laboratorioille/instruktioner-till-laboratorierna/evira_3567_esbl_ampc_ja_karbapen_tutkim_kiekkoherkkyysmen_v1.pdf,

haettu 27.1.2019, päivitetty 14.2.2018

Ruokavirasto (2018b). Hallittu mikrobilääkekäyttö eläimillä ja resistenssin torjunta tuottavat tulosta. <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/euroopan-antibioottipaiva/hallitusta-laakekaytosta-tulosta/>, haettu 27.1.2019, päivitetty 15.11.2018

Ruokavirasto (2018c). Kampylobakteeri, <https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/elintarvikkeiden-turvallisen-kayton-ohjeet/ruokamykytykset/ruokamykytyksia-aiheuttavia-bakteereja/kampylobakteeri/>, haettu 27.1.2019, päivitetty 22.10.2018

Ruokavirasto (2018d). Laajakirjoisia beetalaktamaasientsyymejä tuottavat bakteerit (ESBL), <https://www.ruokavirasto.fi/teemat/zoonosikeskus/mikrobilaakeresistenssi/zoonosibakteeri-en-resistenssi/laajakirjoisia-beetalaktamaasientsyymeja-tuottavat-bakteerit-esbl/>, haettu 27.1.2019, päivitetty 26.11.2018

Ruokavirasto (2018e). Salmonella, <https://www.ruokavirasto.fi/henkiloasiakkaat/tietoa-elintarvikkeista/elintarvikkeiden-turvallisen-kayton-ohjeet/ruokamykytykset/ruokamykytyksia-aiheuttavia-bakteereja/salmonella/>, haettu 27.1.2019, päivitetty 22.10.2018

Ruokavirasto (2018f). Tuontikoira voi olla riski, <https://www.ruokavirasto.fi/yritykset/tuonti-ja-vienti/eu-maat-norja-ja-sveitsi/elaimet/koirat-kissat-ja-fretit/tuontikoira-voi-olla-riski/>, haettu 27.1.2019, päivitetty 7.11.2018

Ruokavirasto (2018g). Usein kysyttyä ESBL:stä, <https://www.ruokavirasto.fi/viljelijat/elaintenpito/elainten-laakitseminen/moniresistentit-bakteerit/usein-kysyttya-esblsta/>, haettu 27.1.2019, päivitetty 22.11.2018

Shimizu T, Harada K, Tsuyuki Y, Kimura Y, Miyamoto T, Hatoya S, Hikasa Y. *In vitro* efficacy of 16 antimicrobial drugs against a large collection of β -lactamase-producing isolates of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* from dogs and cats. J Med Microbiol 2017; 66:1085-1091.

Tham J, Odenholt I, Walder M, Andersson L, Melander E. Risk factors for infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in a county of Southern Sweden. Infect Drug Resist 2013, 6: 93-97.

THL. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. Bakteerien luonnollinen lääkeresistenssi 2009. https://thl.fi/attachments/Fire/liite_8_bakteerien_luonnollinen_resistenssi.pdf

THL. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. Ohje moniresistenttien mikrobien tartunnantorjunnasta. Ohjaus 22/2017, http://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/135404/URN_ISBN_978-952-302-943-9.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Thompson MF, Litster AL, Platell JL, Trott DJ. Canine bacterial urinary tract infections: New developments in old pathogens. *Veterinary J* 2011, 190: 22-27.

Valtioneuvoston asetus 1054/2014 eräiden lääkeaineiden käytön kieltämisestä tai rajoittamisesta eläimille. <https://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2014/20141054>

Viipurin koirat ry. Tiedote 21.6.2017: Multiresistentit bakteerit MRSP ja ESBL. <http://www.viipurinkoirat.fi/tiedote-2162017-multiresistentit-bakteerit-mrsp-ja-esbl>, päivitetty 4.3.2018.

Vuorela N, Jalava J, Hakanen E, Miettinen S, Pelkonen S, Rantala M. Prevalence of third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and their resistance mechanisms in dogs in Finland. 22nd ECCMID (European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases) kongressi, 31.3-3.4.2012.

Wedley AL, Dawson S, Maddox TW, Coyne KP, Pinchbeck GL, Clegg P, Nuttall T, Kirchner M, Williams NJ. Carriage of antimicrobial resistant *Escherichia coli* in dogs: Prevalence, associated risk factors and molecular characteristics. *Vet Microbiol* 2017, 199: 23-30.